АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XX. ВЫП. 3

МАЙ—ИЮНЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1951

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ СТРЕПТОКОККОВ

II. ЛОКОНООБРАЗНЫЕ (СКЛАДЧАТЫЕ) ФОРМЫ STR. LACTIS И STR. DIACETILACTIS[1]

М. Р. Гибшман

При изучении молочнокислых стрептококков основное внимание исследователей обычно уделяется физиологическим свойствам культур, в то время как их морфологические признаки остаются мало изученными.

Все известные до настоящего времени виды молочнокислых стрептококков имеют круглую или слегка удлиненную форму клеток, которые соединены парами или в цепочки разной длины.

Длина цепочек зависит от вида культуры (Str. lactis — диплококки, а Str. cremoris и Str. thermophilus — цепочки), а также от формы, в которой находится культура — гладкой или шероховатой. Для шероховатой формы молочнокислых стрептококков характерно соединение клеток в цепочки (Старыгина [6], Либерман [5], Окулич (Okulitch [11]), Гибшман [1]). Старыгина указывает, что шероховатые формы Str. lactis имеют колонии зернистой структуры и по краям отходящие в стороны небольшие нити, видимые только при сильном увеличении.

Фрост и Энгельбрехт (Frost and Engelbrecht [9]) отмечают, что для молочнокислых стрептококков характерна слегка удлиненная по оси цепи форма клеток, в результате чего последние иногда напоминают короткие палочки, тогда как у патогенных стрептококков, наоборот, клетки могут иметь удлинение в направлении, перпендикулярном оси цепи, и такое расположение называют «частоколом» или «палисадником». Некоторые исследователи утверждают, что подобное явление «сжатия» клеток характерно для патогенных и особенно гемолитических стрептококков. У последних иногда наблюдается настолько большое разнообразие в форме и величине клеток, что препарат кажется состоящим из нескольких культур. Такое подозрение опровергается тем фактом, что на протяжении одной и той же длинной цепи встречаются клетки, весьма различающиеся по форме и размерам. У некоторых клеток намечается деление в двух направлениях и образование тетрад.

Даусон, Хабби и Ольмстед (Dawson, Hobby and Olmstead [8]) показали, что именно для R-форм гемолитических стрептококков характерны своеобразные изменения в форме клеток. Последние имели вид сильно сжатых с боков чечевиц, расположенных рядами и образующих, по выражению автора, «зазубренные стержневые структуры», перемешивающиеся с разнообразными искаженными формами кокков. При пересевах в жидких средах эти странные образования вновь переходят в обычные диплококковые гладкие формы; в кровяном бульоне превращение происходит скорее, чем в обычном. Привлекает внимание тот факт, что чередование морфологических форм — диплококки — ряды сжатых клеток и обратно — имеют последовательный характер. Даусон отмечает, что R-формы гемолитических стрептококков весьма сходны с R-формами пневмококков.

R-формы гемолитических стрептококков были получены при посеве исходных

---

[1] Культуры Str. diacetilactis впервые описаны Матушевским, Пияновским и Супинской (Matuszewski, Pijanowski, Supinska [10]). Ван-Бейнум и Петте (van-Beynum and Pette [7]) примерно в то же время описали культуры Str. citrophilus, по их мнению, идентичные Str. diacetilactis.

Гибшман [2, 3] и Каюкова [4] нашли штаммы молочнокислых стрептококков с «хлебным» запахом, сходные по своим свойствам с указанными выше культурами. Эти культуры обладали промежуточными свойствами. По энергии кислотообразования в молоке и восстановлению лакмуса они приближались к Str. lactis. Одновременно они обладали способностью к сбраживанию лимонной кислоты; образованию значительных количеств летучих кислот, CO_2, ацетоина и диацетила, что сближало их с ароматообразующими стрептококками — Str. citrovorus и Str. paracitrovorus (Betacoccus — Орла Иенсена).

В процессе лабораторного культивирования Str. diacetilactis теряли способность к образованию диацетила, но годами сохраняли остальные свойства. Однако, по нашим наблюдениям, культуры Str. diacetilactis иногда могли терять способность также к образованию летучих кислот. Данные Тиль (Thiel [12] подтвердили наши наблюдения.

культур на кровяной агар. По краю гладких колоний через 10—15 дней появились очень шероховатые отростки, из которых и были выделены R-формы.

Авторы не установили, в результате каких изменений клеток эти своеобразные формы переходили в диплококковые, они наблюдали только, что первые постоянно сменялись вторыми. Кроме того, все предыдущие исследователи не производили окрашивания клеточных оболочек, поэтому не могли иметь более правильного представления о строении этих своеобразных форм и процессе их развития.

Образование локонообразных (складчатых) форм Str. lactis и Str. diacetilactis

При внимательном изучении большого числа культур Str. lactis и Str. diacetilactis мы установили, что они способны, кроме гладких и шероховатых форм, образовывать еще не известные ранее локонообразные (складчатые) формы.

Локонообразные формы впервые обнаружены нами при поверхностном, довольно редком, посеве культур Str. lactis и Str diacetilactis на чашки с МПА (температура 30°) и последующем хранении их в течение 15—30 дней при комнатной температуре. В это время по краю некоторых колоний можно было заметить в каком-либо месте появление одной или нескольких коротких нитей, видимых при небольшом увеличении (в 10 раз). Последние разрастались, переплетались и образовывали вырост, который иногда достигал бóльших размеров, чем материнская колония (рис. 1).

При высеве из этих выростов на МПА мы получали разные по виду локонообразные колонии, из которых и были выделены типичные локонообразные формы.

Дальнейшие исследования показали, что образование локонообразных форм зависит от многих условий.

1. Появление их легче всего заметить при старении колоний Str. lactis и Str. diacetilactis на МПА, как и указывалось выше, а также при посеве уколом в мясо-пептонную желатину (15% желатины + 0,5% агара). Появление локонообразных форм мы чаще наблюдали у культур, перевиваемых в молоке зимнего и весеннего периодов (январь — май).

2. Локонообразные выросты могут появляться у культур как с гладкими, так и шероховатыми колониями. Однако способность к образованию локонообразных форм неодинакова у разных представителей Str. lactis и Str. diacetilactis: одни из них реже дают локонообразные выросты, другие образуют их почти постоянно. Последние, по нашим наблюдениям, в большинстве случаев были старыми лабораторными культурами и обычно имели более шероховатые колонии.

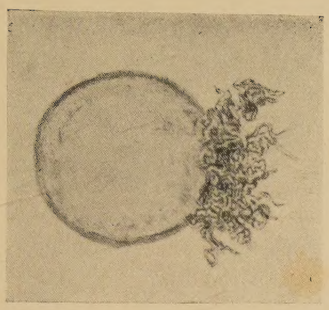
3. Состав среды также оказывал влияние на образование локонообразных форм (испытывались 17 твердых сред разного состава). Многие культуры быстрее всего давали локонообразные выросты (через 4—6 дней) на синтетических средах[2] с добавлением 0,5% пептона и 2% дрожжевого автолизата и несколько реже на среде следующего состава —0,1% Na_2HPO_4 + 0,5% пептона.

На средах, более богатых продуктами белкового распада (сывороточный агар с 1% пептона, агар из гидролизованного молока с пептоном и без пептона и синтетические среды с добавлением пептона, дрожжевого автолизата и 2% глюкозы), а также на самых бедных средах, где наблюдался слабый рост культур (0,1% Na_2HPO_4 + 0,1% пептона), отмечено торможение, а у большинства культур даже полная задержка в образовании локонообразных форм.

Добавление к средам пептона Витте, взамен отечественного, также тормозило образование выростов.

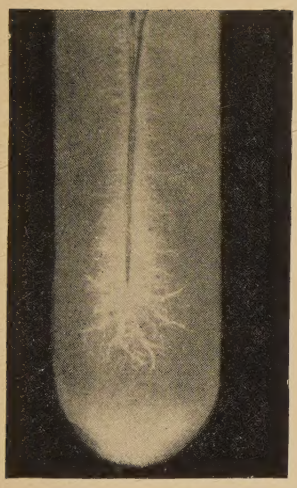
---

[2] K_2HPO_4 — 0,5%; Na_2HPO_4 — 0,2%; $MgSO_4$ — 0,1%; NaCl 0,1%; хлорное железо — 0,001%; следы сернистого аммония.



1

2



3

4

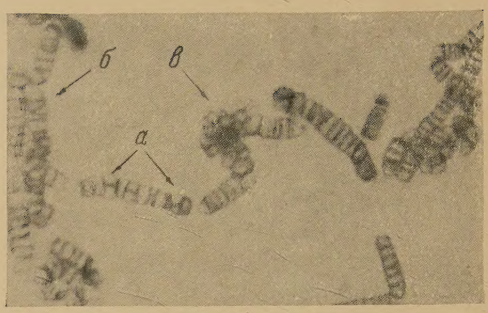
Рис. 1. Локонообразный вырост на колонии Str. lactis (МПА)

Рис. 2. Типичная локонообразная колония на МПА (4 суток) Str. lactis № 4 (ув. × 10)

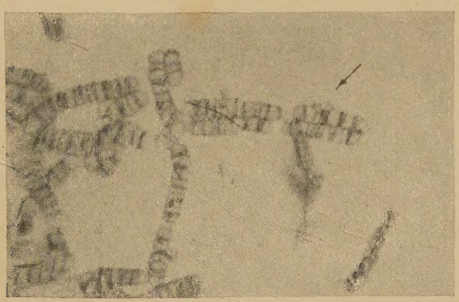
Рис. 3. Древовидный рост локонообразных форм Str. lactis № 4 МПЖ

Рис. 4. Нитевидные образования локонообразных форм Str. lactis № 2 (ув. × 2500)
Окраска клеточных оболочек по методу Пешкова (видоизмененный метод Гуттштейна).

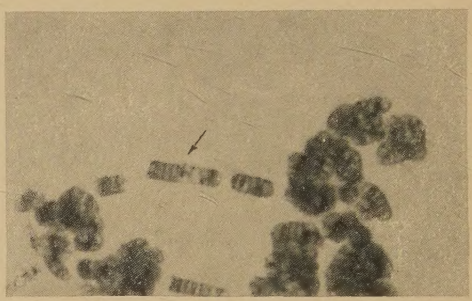
5



6



7



8

9

Рис. 5. Распадение молодых нитей на палочковидные части. Деление клеток с одной плоскости и направлении (висячая капля МПБ + лактоза) Str. diacetilactis № 1 (ув. × 1500)

Рис. 6. Локонообразная форма

а — поперечное деление клеток, *б* — деление клеток по диагонали, *в* — гроздь (висячая капля МПБ + лактоза) Str. lactis № 1 (ув. × 1500)

Рис. 7. Локонообразная форма Str. lactis № 2 (деление клетки на 4 части) висячая капля МПБ + лактоза (ув. × 1500)

Рис. 8. Локонообразная форма Str. lactis № 1. Начало образования грозди на конце нити (висячая капля МПБ + лактоза) (ув. × 1500)

Рис. 9. Локонообразная форма Str. lactis № 2. Прорастание грозди тонкими цепочками кокков и более тонкими нитями (окраска метиленовой синью) без обработки препарата таннином (ув. × 1500)

Окраска клеточных оболочек по методу Пешкова (видоизмененный метод Гуттштейна)

На появление последних оказывает влияние еще плотность среды: так при посеве уколом в МПА с разным процентом агара одни культуры давали выросты на среде с 1—1,5% агара, но не выше, другие, наоборот,— только с 2—3%.

4. Образование локонообразных форм отмечалось на средах, имеющих благоприятную реакцию для развития молочнокислых стрептококков, pH = 6,0 — 7,0. При повышении или понижении величины pH (5,5—8,2) по сравнению с указанными появления выростов не наблюдалось.

5. Локонообразные формы возникали при культивировании молочнокислых стрептококков в молоке при температуре 20, 30 и 40° и последующем высеве на МПА (несколько реже при 40°).

6. Некоторые чувствительные к бактериофагу культуры при возникновении вторичного роста (после лизиса) дают типичные локонообразные формы, которые могут быть выделены, если их в этот момент высеять на МПА.

7. При высеве на МПА естественных кисломолочных продуктов — самоквасной сметаны, творога и др. (в декабре — мае) — на МПА на чашках встречались иногда типичные локонообразные формы молочнокислых стрептококков.

Наши наблюдения показывают, что образование локонообразных форм свойственно гомоферментативным стрептококкам, а также близким к ним Str. diacetilactis, обладающим «переходными» свойствами. У гетероферментативных стрептококков (Str. citrovorus и Str. paracitrovorus) локонообразные формы еще не найдены.

Появление локонообразных выростов, напоминающих описанные выше, мы неоднократно наблюдали у гладких форм молочнокислых палочек, а также у целого ряда споровых бактерий с более гладкими, зернистыми колониями.

Морфологические и культуральные особенности локонообразных (складчатых) форм Str. lactis и Str. diacetilactis

Изучение морфологических свойств локонообразных форм показало, что в этом отношении они резко отличаются от всех ранее известных гладких и шероховатых форм молочнокислых стрептококков.

Их колонии имеют характерную «локонообразную» форму, напоминающую колонии молочнокислых палочек и некоторых споровых бактерий. При небольшом увеличении (в 10 раз) локонообразные колонии кажутся состоящими из потоков нитей (рис. 2). Некоторые из этих нитей могут отходить далеко в сторону от колоний. Кроме типичных колоний, у локонообразных рас встречаются и менее типичные — с шероховатым центром, особенно после нескольких пересадок в жидких и твердых средах.

Размер локонообразных колоний Str. lactis и Str. diacetilactis (2—3,5 мм) в два — четыре раза превышает размеры колоний гладких форм (1 мм).

При посеве уколом в мясо-пептонную желатину локонообразные формы дают характерный древовидный или узловатый рост (рис. 3), а гладкие — обычный ровный рост по всему уколу.

В мясо-пептонном бульоне (МПБ) локонообразные расы начинают развиваться на дне пробирки в виде пушистых комочков или крупных хлопьев, которые иногда соединяются и при встряхивании поднимаются вверх до поверхности бульона, не отрываясь от дна. Бульон при этом всегда остается прозрачным, тогда как гладкие формы дают в нем равномерную муть.

Наблюдения за развитием локонообразных форм проводились на твердых средах — путем отпечатков колоний и в жидких средах — в висячей капле. В последнем случае с МПА, под контролем микроскопа,

бралась частичка отдельной нити, далеко отходящей в сторону от локонообразной колонии (в возрасте два-четыре дня) и помещалась в висячую каплю. Из одной такой нити готовилось до 15 живых препаратов (отбирались капли, содержащие одну-две частицы нити), и за ними велись наблюдения в течение 48 часов при 28—30°. В результате был прослежен процесс развития этих нитей. Для изучения изменений, происходящих с клетками, препараты из висячих капель, а также отпечатки колоний фиксировались в разном возрасте культур (5—48 часов). Во всех случаях (кроме препаратов из молока) производилась окраска клеточных оболочек по методу Пешкова (видоизмененный метод Гуттштейна) [3].

В результате большого числа наблюдений было установлено, что локонообразные формы отличаются рядом морфологических особенностей. Первой из них является способность к образованию длиннейших нитей, представляющих собой соединения сотен клеток.

Ширина нитей достигает 2—3 μ, тогда как клетки гладких форм молочнокислых стрептококков имеют диаметр около 1 μ.

Методами, которыми мы располагали, было трудно точно установить форму клеток в нити. Но на основании просмотра очень большого числа препаратов считаем, что клетки локонообразных рас в молодом возрасте имеют форму коротких цилиндров, плотно прилегающих друг к другу своими плоскими сторонами. В зависимости от быстроты деления цилиндрические клетки в нити могут быть более узкими или более широкими. Клетки при делении не разъединяются, и, таким образом, возникают нити (рис. 4). Нити при старении способны распадаться на части и даже отдельные клетки, при этом последние принимают шаровидную форму (эти клетки иногда не окрашиваются). Молодые нити могут также распадаться на части, состоящие из нескольких цилиндрических клеток. Эти части нитей по виду очень напоминают палочки (рис. 5). До настоящего времени нахождение в культурах молочнокислых стрептококков подобных элементов считается загрязнением.

Живые нити — бесцветны и кажутся сплошными, не разделенными. При окрашивании препарата нитей метиленовой синью клеточные оболочки не окрашиваются, и потому кажется, что нити имеют зубчатое строение. Даусон окрашивал препараты R-форм гемолитических стрептококков метиленовой синью, и поэтому нити представлялись ему «зазубренными стержневыми структурами».

Второй особенностью локонообразных форм является их способность к неравномерному делению в разных плоскостях и направлениях. Для молочнокислых стрептококков известен только один тип деления, а именно — в одной плоскости и направлении. Молодые клетки локонообразных рас (5—9 часов) также делятся в одной плоскости (рис. 5), но в более позднем возрасте клетки могут начать делиться в направлении, перпендикулярном к первоначальной плоскости деления (через 8—12 часов). Делиться таким образом могут клетки обычных размеров или предварительно несколько разросшиеся. Этому необычному делению в другой плоскости могут подвергнуться несколько соседних, рядом лежащих клеток и в таком случае происходит расщепление или даже раздвоение нити параллельно ее оси.

Клетки могут делиться в любых плоскостях: взаимно перпендикулярных, по диагонали и т. д., при этом делящиеся клетки иногда распадаются на неравномерные части. Такому же делению подвергаются также клетки, не достигшие нормальной величины, что приводит к измельчению клеток (рис. 6 *а, б, в* и рис. 7).

---

[3] Препараты высушивались на воздухе и фиксировались в жидкости Карнуа, затем снова высушивались и помещались в водный 10%-ный раствор таннина на 20—30 минут. После таннина препараты тщательно промывались водой, высушивались и окрашивались раствором фуксина (насыщенный спиртовый раствор основного фуксина — 1 капля на 10 мл воды, моментальная окраска).

Неравномерному делению клеток могут подвергнуться целые отрезки, как на концах, так и в середине нити.

Клетки, делящиеся неравномерно, обладают способностью к более быстрому размножению, в результате чего в таких местах образуются большие скопления клеток, напоминающие грозди. Особенно хорошо виден процесс образования гроздей на конце нити. Конечная клетка растет, делается выпуклой, делится на две-три части, которые в свою очередь разрастаются, начинают неравномерно делиться в разных плоскостях и направлениях и дают начало грозди (рис. 8 и 6, *в*). Образование гроздей является третьей особенностью локонообразных форм.

Вследствие неравномерного деления в гроздях появляются клетки разных размеров и разной формы.

В дальнейшем мы наблюдали явление «прорастания» гроздей; при этом из них вырастали тонкие цепочки кокков и более тонкие нити. Наблюдения за «прорастанием» гроздей проводились в молоке (в висячей капле), так как в последнем этот процесс протекал всего яснее и быстрее. Но препараты из молока нельзя обрабатывать таннином (при этом протравливается казеин, который и затемняет всю картину), поэтому они фиксировались жидкостью Карнуа и окрашивались метиленовой синью (рис. 9).

Мы не установили еще точно, какие клетки, составляющие грозди, прорастают цепочками кокков и какие более тонкими нитями, это будет исследоваться в дальнейшем, но на основании длительных и многочисленных наблюдений можно заключить, что нити способны давать гроздевидные скопления клеток, из которых затем появляются тонкие цепи кокков и более тонкие нити. Это и является стадиями перехода от нитевидных — локонообразных форм в стрептококковые.

Наблюдения за развитием нитей локонообразных форм проводились в разных жидких средах (в висячей капле). Было выяснено, что образование гроздей с последующим «прорастанием» в стрептококковые формы зависит как от среды, та и от свойств культур. Превращение нить→ гроздь→ стрептококки, как уже говорилось, происходило скорее всего в молоке. В МПБ с лактозой и печеночным экстрактом этот процесс также значительно стимулируется. В бедной по питательности синтетической среде (0,1% $K_2HPO_4 + 0{,}1\%$ пептона) развития локонообразных рас почти не наблюдалось, добавление лактозы активировало рост, а дополнительное введение печеночного экстракта вызывало сильный рост культур и образование гроздей.

Одни локонообразные расы были более способны к неравномерному делению, образованию гроздей и прорастанию цепями кокков, другие — менее. Этой способностью локонообразных форм к неравномерному делению и образованию разнообразных клеток и объясняются различия в форме колоний, которые наблюдаются у одной и той же локонообразной расы.

Из одной типичной локонообразной колонии, путем посевов на МПА и отбора колоний, было получено до 14 различных в морфологическом отношении рас. Из них более типичными были расы: с гладкими и шероховатыми колониями, клетки которых имели форму дипло- и стрептококков (с различными по длине цепями); с «кожистыми» колониями (с МПА снимались целиком или разрывались, как кожистая пленка) — кокковые формы, делящиеся в двух направлениях, и, наконец, расы с разными типами локонообразных колоний, состоящих только из нитевидных образований или нитей и цепочек кокков разной толщины, или только из длинных цепей мелких кокков. В последнем случае локонообразные колонии имели нежную структуру. Таким образом, именно локонообразные формы являются источником получения самых разнообразных морфологических форм молочнокислых стрептококков.

Расы, имеющие клетки в виде кокков, более стойко сохраняли свои

морфологические признаки. Менее стойкими были локонообразные — нитевидные формы, способные к неравномерному делению. Однако путем периодического отбора типичных локонообразных колоний с твердых сред локонообразные формы возможно сохранить годами. Те же сравнительно редкие случаи, когда при культивировании в молоке локонообразные формы длительно сохраняли свою специфическую нитевидную форму, возможно объяснить меньшей способностью их клеток к неравномерному делению и образованию гроздей с разными по величине и форме клетками. После 12—16 месяцев культивирования в молоке стойкие локонообразные формы также переходили в стрептококковые. Из 34 локонообразных форм молочнокислых стрептококков, перевивавшихся в молоке в

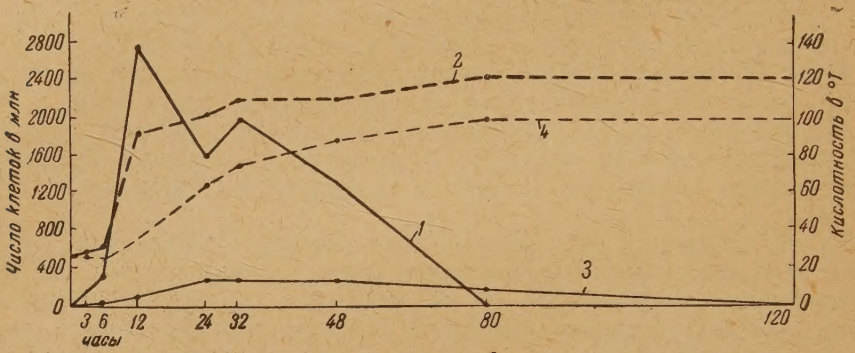


Рис. 10. Динамика развития гладкой и локонообразной формы Str. lactis № 4

1 — число клеток в 1 мл и *2* — кислотность (исходная форма); *3* — число клеток в 1 мл и *4* — кислотность (локонообразная форма)

течение 1—2 лет, при высеве их на МПА (после указанного срока) только у 4 сохранились почти типичные локонообразные колонии; 19 из них давали колонии разных типов (в том числе и локонообразные), и 11 превратились в стрептококковые формы с гладкими и шероховатыми колониями.

Постепенное вытеснение нитевидных форм стрептококковыми обусловливается двумя причинами: 1) сами нитевидные образования, в результате прохождения описанных выше стадий развития, способны давать стрептококковые формы; 2) кроме того, стрептококковые формы имеют более быстрый темп размножения, чем нитевидные (рис. 10). При культивировании в молоке максимум клеток у исходной культуры отмечается через 12 часов (несколько миллиардов) тогда как у локонообразной расы значительно позднее — через 24—32 часа. Имеет значение также то обстоятельство, что клетки локонообразных форм соединены в длинные нити, в результате чего последних в культурах будет всегда меньше, чем диплококковых форм. Поэтому при перевивках локонообразных форм в молоке происходит постепенный отбор диплококковых форм. По этим же причинам локонообразные формы в молочных продуктах встречаются реже, чем стрептококковые.

Бактериологи, работающие с молочнокислыми стрептококками, наблюдали в чистых культурах появление локонообразных — нитевидных форм, особенно при перевивках культур в молоке зимнего и весеннего периодов, и считали их инволюционными формами или загрязнением.

Найденные нами локонообразные формы молочнокислых стрептококков представляют исключительный интерес, так как, во-первых, они являются значительно более сложными в морфологическом отношении, чем обычные молочнокислые стрептококки; во-вторых, благодаря тому, что локонообразные формы дают нитевидные соединения клеток, которые способны к неравномерному делению и образованию гроздей, молочно-

кислые стерптококки сближаются с другими бактериями — стафилококками, микрококками, нитчатыми и др.

Локонообразные формы молочнокислых стрептококков с трипофлавином дают более четкую реакцию агглютинации, чем ранее известные шероховатые формы. Они сходны с описанными в литературе формами гемолитических стрептококков и пневмококков. Основное сходство заключается в способности R-форм к образованию нитевидных соединений, которые и обусловливают специфическую «локонообразную» форму колоний.

На основании изложенного можно сделать вывод, что локонообразные формы молочнокислых стрептококков по морфологическим и культуральным признакам являются более типичными R-формами, чем известные ранее шероховатые формы.

Физиологические свойства локонообразных форм Str. lactis и Str. diacetilactis

Изучение физиологических свойств локонообразных форм, а также форм, полученных из локонообразных, показало, что по многим признакам они были похожи на исходные культуры. Например, эти расы сбраживали те же углеводы, что и исходные культуры, но несколько слабее, и только в одном случае отмечено отклонение, когда локонообразная раса Str. lactis № 4 утратила способность к сбраживанию маннита (табл. 1).

Ту же зависимость можно наблюдать и по отношению к бактериофагу. Культуры, чувствительные к бактериофагу (специфичному), давали локонообразные формы, чувствительные к тому же бактериофагу, а из нечувствительных получались расы, не чувствительные к бактериофагу.

Локонообразные формы и формы, полученные от них, были подобны исходным культурам по отношению к реакции среды, кардинальным температурным точкам, а также образованию диацетила и летучих кислот. Однако по некоторым физиологическим признакам локонообразные формы отличались от исходных культур. Так, в большинстве случаев локонообразные формы медленнее свертывали молоко (30—72 часа), чем исходные культуры (10—14 часов). Нарастание кислотности в молоке протекало замедленно, особенно в первые часы их развития. Однако через 3—5 суток многие локонообразные формы наращивали в молоке довольно высокую кислотность (до 100—110°), что наблюдалось даже у рас, длительно сохраняющих нитевидную форму. При длительном культивировании в молоке способность к кислотообразованию у локонообразных форм постепенно повышалась даже в первые часы развития, и они начинали свертывать молоко с такой же, а иногда и большей активностью, чем исходные культуры.

По нашим наблюдениям, такое повышение кислотообразования в молоке обычно совпадало с переходом локонообразных, нитевидных форм в стрептококковые. Гладкие и шероховатые формы, полученные из локонообразных, большей частью обладали большей энергией кислотообразования в молоке, чем исходные культуры (табл. 1).

Одновременно отмечено, что локонообразные формы в течение первых пересевов в молоке, после выделения из колоний, обладали большей протеолитической активностью по сравнению с исходными культурами, причем способность к протеолизу, с увеличением количества пересевов в молоке постепенно понижалась. Это понижение совпадало с переходом локонообразных форм в стрептококковые. Гладкие и шероховатые формы молочнокислых стрептококков, полученные из локонообразных форм, по протеолитической активности были подобны исходным культурам (табл. 2).

В МПБ локонообразные формы так же, как и в молоке, постепенно

Таблица 1

Биохимическая характеристика различных молочнокислых стрептококков

Культура	Сбраживание углеводов, кислотность, °Т (за вычетом контроля) через 7 дней при 30°						В молоке		
	ксилоза	маннит	глюкоза	лактоза	сахароза	декстрин	кислотность в °Т (через 16 час. при 30°)	летучие кислоты в °Т на 100 мл отгона	диацетил в мг
Str. lactis									
№ 1 Исходная	0	10	24	21	0	16	70,5	0,8	0
№ 1 Локонообразная	0	6	21	17	0	16	48	0,7	0
№ 1 Гладкая из локонообразной	0	9	26	20	0	12	79	0,7	0
№ 2 Исходная	0	0	22	28	0	16	78	0,6	0
№ 2 Локонообразная	0	0	20	19	0	13	52	0,6	0
№ 4 Исходная	0	16	28	26	0	16	82	0,8	0
№ 4 Локонообразная	0	0	28	20	0	14	52	0,7	0
№ 4 Шероховатая из локонообразной	0	0	24	22	0	14	89	0,7	0
№ 7 Исходная									
№ 7 Локонообразная	32	0	26	30	34	18	92	0,9	0
Str. diacetilactis	22	0	22	26	20	12	50	0,9	0
№ 1 Исходная	0	0	18	14	0	14	84	3,7	0
№ 1 Локонообразная	0	0	14	18	0	14	64	2,3	0
№ 1 Гладкие из локонообразных	0	0	14	18	0	12	94	2,7	0
№ 3 Исходная	0	0	30	32	0	22	75	2,1	25,0
№ 3 Локонообразная	0	0	42	16	0	16	67	2,0	22,0

Таблица 2

Протеолитическая активность разных рас Str. lactis в молоке с мелом (по Вильштеттеру)

Культура	Общая протеолитическая активность в мл 0,1 *N* КОН на 100 мл фильтрата	
	локонообразные 1-й пересев	локонообразные 10—30-й пересев в молоке
Исходная	16,0	16,0
Локонообразная	28,6	21,2—11,4
Гладкая из локонообразной	16,0	15,0
Исходная	13,0	12,0
Локонообразная	20,0	13,0
Исходная	9,5	10,0
Локонообразная	20,8	7,6
Шероховатая из локонообразной	10,4	—

переходили в стрептококковые формы. При этом они теряли способность к сбраживанию лактозы и свертыванию молока. Отмечено, что при перевивках в МПБ локонообразные формы быстрее, чем исходные стрептококковые, теряли эту способность.

Таким образом, возможно отметить следующую закономерность: в зависимости от среды, в которой культивируются локонообразные формы (молоко или МПБ), возникающие из них стрептококковые формы различаются по способности к сбраживанию лактозы. При этом новые стрепто-

кокковые формы были более приспособленными к данной среде, чем исходные культуры (активнее по кислотообразованию в молоке).

Более слабое кислотообразование в молоке локонообразных рас по сравнению с исходными культурами может быть вызвано не только ослаблением их ферментативной деятельности, но также изменившимися требованиями к питанию. Для выяснения этого вопроса были проведены наблюдения за кислотообразованием исходных и локонообразных рас в молоке с пептоном (так как пептон значительно стимулировал появление локонообразных выростов), а также за ростом и кислотообразованием культур на разных питательных жидких и твердых средах (синтетических, состав которых указан ранее), с добавлением печеночного экстракта, дрожжевого автолизата, пептона, гидролизованного молока, на мясных средах, сывороточных, триптофанных и др.

Полученные результаты показали, что добавление к молоку пептона значительно сильнее влияло на локонообразные формы, чем на исходные. На одни расы более сильное действие оказывало добавление 0,5% пептона, на другие — 0,1%. Некоторые из них при добавлении к молоку 0,5% пептона становились настолько активными, что давали такую же кислотность, как исходные культуры в обычном молоке. Следовательно, более слабое кислотообразование в молоке у локонообразных рас в известной степени зависит от изменившихся требований к питанию (табл. 3).

Таблица 3

Кислотообразование в молоке с пептоном разных рас молочнокислых стрептококков

Культура		Кислотность в °Т через 16 часов (за вычетом контроля)				
		молоко	молоко+0,1% пептона, общ. кислотность	увеличение кислотности	молоко+0,5% пептона, общ. кислотность	увеличение кислотности
№ 1	Исходная . . .	61	71	+10	63	+ 2
	Локонообразная	33	51	+21	40	+ 7
	Гладкая из локонообразной . .	70	74	+ 4	75	+ 5
№ 4	Исходная . . .	70	79	+ 9	77	+ 7
	Локонообразная	25	54	+29	71	+46

Гладкая раса, полученная из локонообразной № 1, слабее реагировала на добавление к молоку пептона, чем исходная культура. Повидимому, обычное молоко является для нее более подходящей средой, что подтверждается также большей энергией кислотообразования в молоке.

Почти все локонообразные формы сильнее, чем исходные культуры, реагировали на добавление пептона к синтетическим средам.

Весьма заметная разница наблюдалась между исходными и некоторыми локонообразными расами в отношении к печеночному экстракту и гидролизованному молоку. Добавление к синтетическим средам печеночного экстракта резко стимулировало рост и кислотообразование локонообразных форм, а гидролизованного молока — исходных культур. Наряду с этим встречались локонообразные формы, которые по потребности в питательных веществах мало отличались от исходных культур (даже расы, длительно сохраняющие нитевидные формы).

Различие между исходными культурами и их локонообразными формами наблюдалось также по отношению к высушиванию. Для опытов брались локонообразные расы сразу после выделения из колоний, когда

в культуре превалировали нитевидные формы. Высушивание производилось следующим образом: 48-часовые культуры из молока (хранение после свертывания при 10°) в количестве 0,1 и 1,0 мл помещались в термостат в стерильных стаканах при 40°. Высушивание 0,1 мл культуры продолжалось в течение полутора часов, а 1,0 мл в течение 5 часов. При посеве к сухой культуре (в стакане) добавлялось 10 мл стерильной воды, производилось тщательное перемешивание и высев на МПА (табл. 4).

Таблица 4

Отношение к высушиванию исходных и локонообразных культур Str. lactis (посев на МПА)

Культура	Количество бактерий до высушивания в 1 мл жидкой культуры	Количество бактерий после высушивания в млн. (в пересчете на 1 мл жидкой культуры)		Осталось живых бактерий в % к исходным при высушивании	
		сушился 0,1 мл культуры	сушился 1 мл культуры	0,1 мл	1,0 мл
№ 1 Исходная	3080	892,0	22,1	22,4	0,7
№ 1 Локонообразная	260	254,0	47,1	97,9	18,1
№ 2 Исходная	2530	68,0	0,8	2,6	0,03
№ 2 Локонообразная	325	26,5	9,0	8,1	2,8
№ 4 Исходная	4270	24,1	6,6	5,6	0,1
№ 4 Локонообразная	610	364,0	172,0	59,5	28
№ 5 Исходная	3880	136,0	46,5	3,5	1,2
№ 5 Локонообразная	485	81,9	94,5	16,9	19,2

Локонообразные расы были значительно устойчивее к высушиванию, чем исходные культуры, что особенно было заметно при длительном высушивании. У локонообразных культур после пяти часов высушивания содержалось в несколько раз больше живых клеток, чем у исходных культур. Устойчивость локонообразных рас к высушиванию понижалась, если они некоторое время перевивались в молоке, что связано с переходом локонообразных форм в стрептококковые. При длительном хранении культур на свету в МПБ более устойчивыми оказались локонообразные расы, которые через пять месяцев еще сохраняли жизнедеятельность, тогда как исходные культуры погибали через один-два месяца.

Следовательно, локонообразные формы молочнокислых стрептококков отличаются неустойчивостью в отношении морфологических и некоторых физиологических свойств и вместе с тем являются более жизнеспособными при неблагоприятных условиях. Эти особенности дают им возможность лучше приспосабливаться к изменившимся условиям внешней среды. Поэтому возникновение локонообразных форм у молочнокислых бактерий можно рассматривать как положительный биологический момент.

В проведении экспериментальной работы участвовали научные сотрудники Е. Н. Дерябина, А. И. Маненкова и Н. С. Королева.

Выводы

1. Найдены новые локонообразные формы молочнокислых стрептококков Str. lactis и Str. diacetilactis. При высеве культур на МПА по краю некоторых колоний при старении наблюдались появления выростов, состоящих из пучка переплетенных нитей. При посеве этих выростов на МПА были выделены типичные локонообразные формы. Возникновение последних зависело от состава среды, ее плотности и реакции. У некоторых культур, чувствительных к бактериофагу, они появлялись под воздействием фага. Способность к образованию локонообразных форм зависела от свойств культур: одни давали эти формы чаще, другие — реже.

2. По морфологическим признакам локонообразные формы резко отличаются от всех ранее известных гладких и шероховатых форм молочнокислых стрептококков. Их колонии имеют характерную «локонообразную» (складчатую) форму и по размерам в два-четыре раза превышают колонии гладких форм. При посеве уколом в МПЖ они дают древовидный или узловатый рост. В мясопептонном бульоне (МПБ) растут пушистыми комочками или крупными хлопьями, оставляя бульон прозрачным. Клетки локонообразных форм сжаты с боков и напоминают по форме короткие цилиндры, которые плотно прилегают друг к другу своими плоскими сторонами и образуют длиннейшие нити. Ширина нити достигает 2—3 μ. Клетки локонообразных форм способны к неравномерному делению в разных плоскостях и направлениях, в результате чего образуются скопления, напоминающие грозди, состоящие из клеток разных размеров. Грозди способны прорастать тонкими цепочками кокков и нитями, более тонкими, чем исходная нить. Стрептококковые формы, образовавшиеся из локонообразных, благодаря более быстрому темпу размножения постепенно вытесняют нитевидные. При переходе в стрептококковые формы локонообразные расы теряют специфическую форму колоний. Это указывает на неустойчивость морфологических свойств последних. Однако встречаются отдельные расы, сохраняющие локонообразную форму более длительное время. Локонообразные формы по морфологическим и культуральным признакам являются более типичными R-формами, чем ранее известные шероховатые формы молочнокислых стрептококков. Указанные морфологические особенности локонообразных форм сближают молочнокислые стрептококки с другими бактериями — микрококками, стафилококками, нитчатыми бактериями и т. д.

3. Локонообразные формы подобны исходным культурам по многим физиологическим признакам: сбраживанию углеводов, отношению к реакции среды, к температуре, бактериофагу, образованию летучих кислот и диацетила. Они отличаются от исходных культур более слабой энергией кислотообразования в молоке, большей протеолитической активностью, большей стойкостью к высушиванию и неблагоприятным условиям. Они имеют несколько иную потребность в питательных веществах по сравнению с исходными культурами (для нормального кислотообразования в молоке нуждаются в добавлении пептона и др.).

В процессе перехода локонообразных форм в стрептококковые они постепенно теряют указанные отличия.

При культивировании локонообразных форм на разных средах получаемые из них стрептококковые формы различались по физиологическим свойствам. Стрептококковые формы, образовавшиеся из локонообразных в молоке, в большинстве были более активными по кислотообразованию, чем исходные культуры, а в МПБ они теряли способность к сбраживанию лактозы и свертыванию молока.

4. Все указанные особенности локонообразных рас дают им возможность лучше приспосабливаться к изменившимся условиям внешней среды. Поэтому возникновение локонообразных форм у молочнокислых стрептококков можно рассматривать как положительный биологический момент.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сыродельной промышленности
г. Углич

Получено 15. IV. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гибшман М. Р. Изменчивость молочнокислых стрептококков. 1. Диссоциация гетероферментативных стрептококков. Микробиология, XVII, вып. 4, 1948.
2. Гибшман М. Р. Микрофлора заграничных заквасок (выполнена в 1935 г.). Тр. Н.-иссл. ин-та молочной пром., вып. 1, стр. 44, 1938.

3. Гибшман М. Р. Подбор заквасок для маслоделия. Микробиология, IX, вып. 5, 1939.
4. Каюкова Н. И., Бузук В. М. и Першина Е. Н. К экологии ароматообразующих бактерий молочнокислых продуктов (выполнена в 1935 г.). Микробиология, VI, 60, 1937.
5. Либерман Л. Изменчивость Str. lactis под влиянием температур. Мікробіологічний журнал, т. II, № 1, 1935, УССР.
6. Старыгина Л. П. Диссоциация молочнокислых бактерий, Микробиология IV, вып. 2, 1935.
7. Van-Beynum I. und Pette I. W. Die Rolle der Milchsäure-Bakterien bei der Butteraromabildung. Реф. Milchwirtsch. Forschungen, 18, 209, 1936.
8. Dawson M. H., Hobby G. and Olmstead M. Variation in the hemolytic Streptococci. J. Inf. Dis., 62, 138, 1938.
9. Frost W. D. and Engelbrecht M. W. The Streptococci. Their descriptions with special reference to those in milk. Madison, Wisconsin, Willdof Book Company, 1940
10. Matuszewski T. E., Pijanowski E. und Supinska I. Str. diacetilactis n. sp.— und seine Anwendung bei der Herstellung von Butter. Реф. Chem. Ctbl., N 11, 205, 1936.
11. Okulitch O. Microbic dissociation of lactic acid streptococci. Canadian Journ., 17, 171, 1939.
12. Thiel C. C. Реф. Milchwirtsch. Forschungen 128. 1936. The influence of various factors on the fermentation and products of the heterofermentative streptococci. Diary Res., No. 1, 1940.

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ КУЛЬТУРЫ МАСЛЯНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Н. Д. Иерусалимский

Введение

Перенесение бактерий из их привычной естественной обстановки в искусственно созданные условия чистых культур приводит в ряде случаев к серьезному изменению их свойств и особенностей. Однако это правило нельзя абсолютизировать. По поводу высших растений Лысенко писал: «Нужно спросить у растения, а не просто гадать, «как нам кажется», является ли перенос его в другую среду обитания переносом его в другие «условия существования». Могут быть большие различия в среде, которые оказываются отнюдь не существенными для растения» (Лысенко [4], стр. 69). «Путем анализа необходимо экспериментально выяснить, какие же условия этой внешней среды являются действительно необходимыми. Соотношение отдельных факторов... в полевой обстановке бывает далеко не оптимальным. Это соотношение можно во многих случаях искусственно создать намного лучше» (там же, стр. 32).

Эти соображения верны и в отношении бактерий. Выявление необходимых им условий внешней среды и искусственное воссоздание этих условий в лаборатории является, может быть, и нелегкой, но все же осуществимой задачей. Нельзя при этом забывать, что бактерии не слишком узко специализированы. Норма потребностей, выработавшаяся у них в процессе эволюции, в результате приспособления к экологической обстановке, довольна широка. Изменение условий среды в пределах этой нормы не ведет к ломке их наследственности. В подобных случаях изменяется только общий темп роста или развития или же усиливаются и ослабевают отдельные функции и свойства бактерий.

После того, как экспериментальным путем будут выявлены природные потребности бактерий (такого рода эксперименты можно бы назвать «онтогенетическим анализом»), нетрудно воспроизвести и их онтогенетическое развитие. С этой целью бактерий следует высеять в благоприятную для них среду, при надлежащей температуре и аэрации, а затем предоставить им возможность изменять состав среды соответственно особенностям их обмена веществ. В этих условиях бактериальная культура, размножаясь и физиологически изменяясь, будет проходить путь своего онтогенетического развития (точнее сказать, один из возможных вариантов нормального онтогенеза). Для экономии места я не буду вдаваться в обоснование правомерности указанного приема, отсылая по этому вопросу к другим работам [2, 3].

В настоящей работе в качестве примера изложены данные по физиологии развития маслянокислых бактерий.

Маслянокислые бактерии известны очень давно, и морфо-физиологические свойства их описаны довольно подробно. Известно [5, 6], что они являются строгими анаэробами, образующими из углеводов масляную и уксусную кислоты, углекислоту, водород и в меньшем количестве — некоторые другие кислые и нейтральные продукты. Маслянокислые бактерии представляют собой довольно крупные, с перитрихиальным жгутованием палочки, окрашивающиеся положительно по Граму, откладывающие внутри запасы гранулезы и образующие споры по клостридиально-

му типу. Проведенные в нашей лаборатории исследования позволили уточнить их потребности в витаминном и азотистом питании: оказалось, что маслянокислым бактериям безусловно необходим биотин и стимулирующее действие на них оказывают витамины B_1 и B_6. Белков они не расщепляют и в готовых аминокислотах не нуждаются, хотя и реагируют положительно на добавление этих последних. Для нормального развития маслянокислых бактерий нужны среды, нейтрализуемые мелом. Из натуральных сред особенно благоприятен 25—35%-ный картофельный затор или картофельный сок, пополненный солями и углеводами. Столь же хороши и синтетические сахаро-аммонийные среды с добавлением в них дрожжевого автолизата в качестве источника витаминов. Оптимальная температура культивирования — 30—35° [1].

Нормальный онтогенез культуры маслянокислых бактерий

Кривую роста бактериальных культур принято подразделять на четыре основных периода (или фазы), связанных между собой еще промежуточными фазами. Однако правильнее было бы говорить не просто о периодах роста, а о периодах онтогенетического развития культуры (Иерусалимский [3], стр. 151—155).

Онтогенез бактериальной культуры начинается с эмбрионального периода, в течение которого засеянные в среду покоящиеся клетки прорастают, а старые вегетативные клетки «омолаживаются», приспосабливаясь к условиям среды. На кривой роста культуры этот период соответствует «лаг-фазе», а в брожении — скрытому (инкубационному) периоду. Эмбриональный период может и отсутствовать, если посев был достаточно большой, засеянные клетки — молодые, а состав среды вполне благоприятен для их развития.

Второй период онтогенеза культуры — это ростовой период. Он характеризуется быстрым и относительно равномерным делением клеток. Основная часть этого периода соответствует «логарифмической фазе» роста культуры, а в брожениях — периоду разбраживания. К концу этого периода рост культуры замедляется, отчасти — вследствие замедления темпа деления бактерий, отчасти потому, что все большее и большее количество бактерий полностью перестает размножаться, превращаясь в нежизнеспособные инволюционные формы, вымирая или же преобразуясь в покоящиеся формы жизненного цикла.

После этого культура вступает в период зрелости, соответствующий периоду главного брожения и максимальной стационарной фазе на кривой роста культуры. В период зрелости завершается формирование покоящихся форм жизненного цикла.

Затем наступает последний этап всякого онтогенеза — период старости культуры (фаза отмирания культуры, период дображивания). Культура бактерий в этот период выглядит особенно неоднородной: наряду с созревшими покоящимися формами в ней можно найти все ступени отмирания и разнообразные проявления старческого вырождения.

Проследим теперь в культуре маслянокислых бактерий все эти периоды онтогенеза. Для иллюстрации на рис. 1 даны кривые роста трех культур на 35%-ном картофельном заторе (кривая *1*) и на минерально-глюкозной среде с добавлением 0,3% пептона Дифко и 4% дрожжевого автолизата (кривые *2* и *3*). Состав этой минерально-глюкозной среды был следующий: $(NH_4)_2HPO_4$ — 0,1%; K_2HPO_4 — 0,05%; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,01%; глюкозы — 5—6%; мела — 2%; вода водопроводная. Упомяну-

[1] Приведенные ниже данные были получены автором при участии Н. М. Нероновой. Частично использованы также материалы дипломных студенческих работ И. Д. Касаткиной и Н. М. Вербиной, проведенных под руководством автора.

тые здесь среды особенно благоприятны для роста и развития маслянокислых бактерий.

Первый (эмбриональный) период онтогенеза наблюдается только в культуре № 3, получившей наименьшее количество посевного материала ($0{,}8 \cdot 10^6$ клеток на 1 мл среды). В двух других культурах сразу начинается период роста. Обращает на себя внимание необычайная краткость периода роста маслянокислой культуры — он продолжается не более 8—10 часов. Скорость деления бактерий в этот период составляет 30, 40 и 60 минут. У родственных им ацетоно-бутиловых бактерий время генерации бывает не меньше 80—100 минут, а период роста культуры растягивается на срок приблизительно вдвое больший [1]. Период зрелости в культуре маслянокислых бактерий, напротив, отличается необычайной растянутостью. На кривых рис. 1 он продолжается около суток У других бактерий, в том числе и ацетоно-бутиловых, этот период обычно бывает более кратковременным (см. соответствующие рисунки [1]).

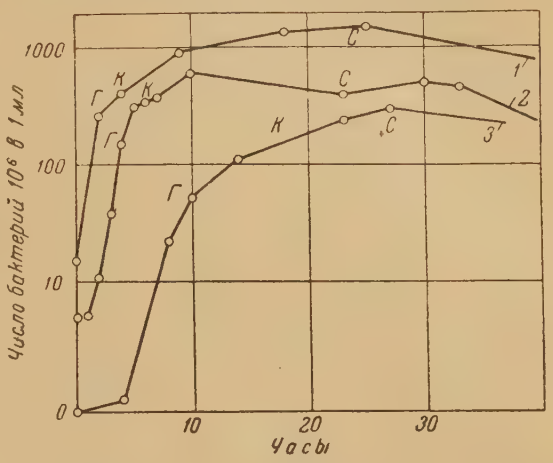


Рис. 1. Кривые роста трех культур маслянокислых бактерий

Г — появление гранулезной реакции; *К*—появление клостридиев; *С* — появление готовых спор

Для объяснения особенностей роста маслянокислой культуры следует обратиться к микроскопическим наблюдениям.

На рис. 2, *А* показана культура в начале периода роста. Здесь еще сохранились удлиненные эмбриональные клетки, которые затем распадаются на клетки нормальных размеров. Иногда попадаются коккообразные формы, происходящие благодаря неравномерному делению.

Во второй половине периода роста появляются первые клетки с отложением гранулезы (см. зачерненные места в клетках на рис. 2, *Б* и на следующих рисунках). Раствором Люголя такие клетки окрашиваются в чернофиолетовый цвет целиком или же (чаще) — отдельными пятнами. Число гранулезосодержащих клеток постепенно возрастает, и в период зрелости культуры достигает 40—60% к общему числу клеток в культуре.

Впервые появившиеся гранулезосодержащие клетки не отличаются по форме и размерам от нормальных вегетативных клеток. Затем некоторые (но не все) из них утолщаются, сохраняя при этом цилиндрическую форму. Значительная часть (но опять-таки не все) из этих цилиндрически утолщенных клеток принимает в дальнейшем удлиненно-эллиптическую (сигаровидную), а потом типично клостридиальную (веретенообразную) форму. В начале периода зрелости культуры приблизительно половина гранулезосодержащих клеток имеет сигаровидную и веретенообразную форму. Все ступени этих превращений можно проследить на рис. 2, *Б* и 2, *В*.

Появление клостридиальных форм означает начало периода зрелости культуры (рис. 2, *В*). В этот период происходит спорообразование. Оно начинается с того, что гранулеза на концах клостридиев начинает исчезать. В центре клостридия, а чаще — ближе к одному из концов, начинает постепенно дифференцироваться проспора. Затем гранулеза пол-

ностью исчезает, а проспора созревает, переставая краситься слабыми растворами красок. Рис. 2, *Г*, изображающий вторую половину периода зрелости культуры, позволяет проследить, как остальная часть клостридия, постепенно уменьшаясь, превращается в узкую каемку вокруг споры и, наконец, исчезает совсем. Остается зрелая готовая спора.

Процесс спорообразования маслянокислых бактерий был не раз описан в литературе. Мы повторяем его описание только затем, чтобы показать, как увязаны этапы этого процесса с периодами онтогенеза культуры.

Рис. 2. Вид культуры в разные периоды ее развития

А — начало периода роста; *Б* — конец периода роста; *В* — начало периода зрелости; *Г* — конец периода зрелости

На рис. 1 морфологические данные сопоставлены с фазами роста культуры: отмечены моменты появления гранулезосодержащих клеток, клостридиев и зрелых спор. Необходимо упомянуть еще о появлении во второй половине периода зрелости небольшого числа старческих форм. Это — клетки нормальных размеров, равномерно окрашивающиеся кислыми красками (например, эритрозином), но, в отличие от молодых клеток, плохо воспринимающие слабые растворы основных красок. Так, водная метиленовая синь окрашивает их в очень бледный цвет, причем в некоторых из них удается заметить по небольшому фиолетовому зернышку (повидимому, волютин). В других случаях наблюдается отмешивание базофильных веществ в виде нескольких зерен, окрашивающихся метиленовой синью в основной (не метахроматический) цвет. Старческие оксифильные формы в дальнейшем отмирают и лизируются. Авто-

лиз начинает с того, что клетки приобретают неправильные, искривленные контуры и все хуже воспринимают краски, в том числе и кислые. В них появляются по две-три вакуоли, разделенные поясками плазмы.

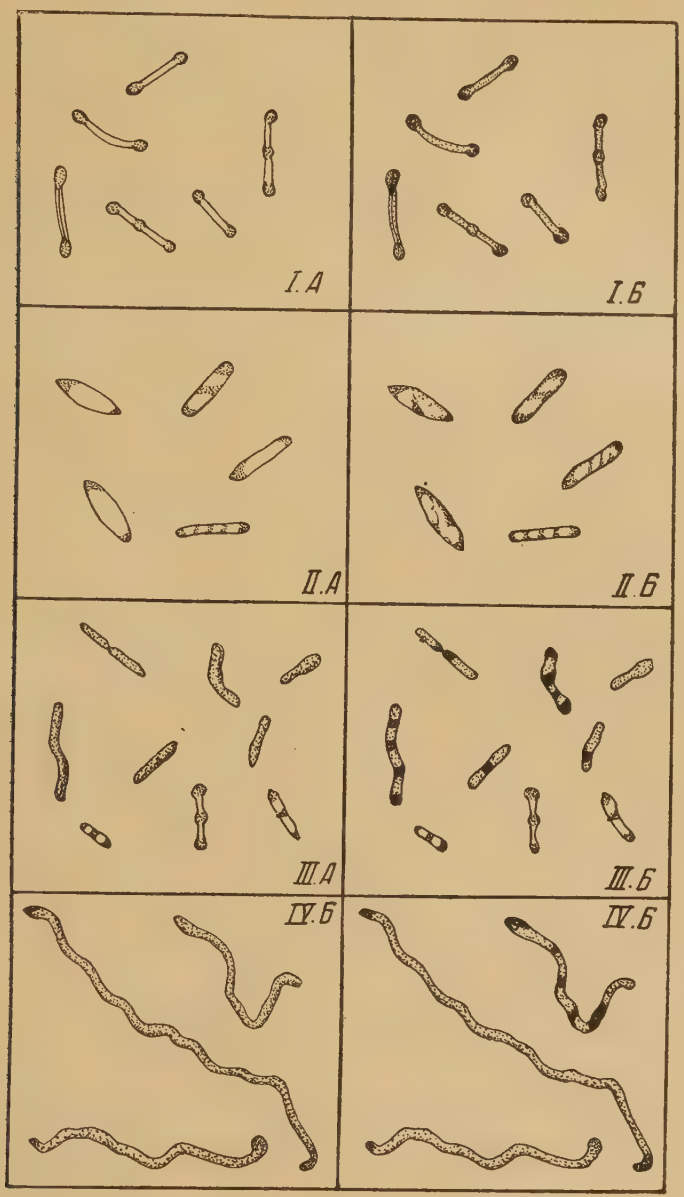


Рис. 3. Некоторые характерные типы клеток

I — клетки с зерновидными включениями; *II* — клетки с отложением гранулезы; *III* — старческие и отмирающие формы; *IV* — удлиненные оксифильные формы.
А — окраска эритрозином; *Б* — дополнительная окраска метиленовой синью. Раствором иода бесцветные места в клетках *II*, *Б* окрашиваются в темно-фиолетовый цвет, окраска остальных типов клеток при этом не изменяется

Все ступени одряхления и автолиза можно проследить на рис. 3, *III*. Особый тип старческого вырождения показан на рис. 3, *IV*.

Необходимо отметить, что неоднородное окрашивание клеток может зависеть и от других причин. Так, например, отложения гранулезы не прокрашиваются слабыми красками, а поэтому после такой покраски

вполне жизнеспособные гранулезосодержащие клетки могут казаться как бы вакуолизированными (рис. 3, *II*). Но стоит лишь нанести на покрашенный препарат каплю люголевского раствора, чтобы недоразумение рассеялось.

При некоторых условиях питания в зрелых культурах появляются клетки с отчетливыми, видимыми даже на живых препаратах, зернами по концам клетки, а иногда еще и посередине. Эти зерна красятся ярче, чем остальная протоплазма, и поэтому при окраске эритрозином клетка может показаться тоже как бы вакуолизированной (рис. 3, *I*). Ниже мы вернемся к вопросу об этих включениях.

Изложенные выше наблюдения позволяют понять характерные особенности роста маслянокислой культуры. Быстрое замедление ее роста объясняется ранним появлением гранулезосодержащих утолщенных клеток: такие клетки не способны размножаться, хотя и обладают полной жизнеспособностью, энергично двигаясь по среде и (как показывают приведенные ниже расчеты) продолжая интенсивно сбраживать углеводы. Подвижностью обладают даже клостридии, уже содержащие внутри ясно видимую проспору. Но с другой стороны, нежизнеспособных, отмирающих клеток в растущей культуре маслянокислых бактерий бывает немного: они появляются в заметном количестве только в самом конце периода зрелости. Таким образом, в отличие от многих других бактерий, стационарная фаза роста в культуре маслянокислых бактерий является стационарной фазой в подлинном смысле этого слова: это — не равновесие между новообразованием и отмиранием клеток, а почти полное отсутствие как того, так и другого.

Чтобы закончить характеристику онтогенеза маслянокислой культуры, необходимо еще коснуться вопроса об ее биохимической активности. Подсчеты показывают, что бродильная активность маслянокислой культуры в период роста выражается цифрой $9—13 \cdot 10^{-9}$ мг/час газа в среднем на одну клетку. В стационарной фазе роста, когда число размножающихся клеток крайне невелико, активность культуры уменьшается, но не слишком резко — до $2—4 \cdot 10^{-9}$ (в тех же единицах). Очевидно, что в сбраживании углеводов участвуют также и неразмножающиеся формы, сохранившие свою жизнеспособность.

В типичном маслянокислом брожении основными негазообразными продуктами являются кислоты — масляная и уксусная. Количество нейтральных продуктов здесь ничтожно (табл. 1).

Таблица 1

Образование кислот в г/100 мл		Высчитанное количество сахара, необходимое для образования кислот, в г/100 мл			Количество фактически сброженного сахара в г/100мл	Высчитанное количество сахара в % к фактически сброженному
масляной	уксусной	масляной	уксусной	всего		
1,79	1,30	3,7	1,9	5,6	5,8	97
1,42	0,82	2,9	1,2	4,1	4,1	100
1,70	1,07	3,4	1,6	5,0	5,4	93
1,29	0,88	2,6	1,3	3,9	4,2	93
1,90	0,80	3,8	1,2	5,0	5,6	89
1,40	0,97	2,8	1,5	4,3	4,5	96
0,78	0,55	1,6	0,8	2,4	2,2	109
1,20	0,82	2,4	1,3	3,7	3,9	95
1,57	1,07	3,1	1,6	4,7	4,2	112
					Среднее	98 ± ±6%

Несмотря на колебания результатов, зависящие от аналитических погрешностей, из табл. 1 все же ясно видно, что лишь небольшое количество сброженных углеводов могло израсходоваться не на образование кислот, а по иному назначению — на образование других продуктов, на ассимилятивные процессы и пр.

Проводившимися в лаборатории Шапошникова исследованиями была показана двухфазность ацетоно-бутилового брожения; направление бродильного процесса в период роста культуры бывает иным, чем в период ее зрелости. Дальнейшие исследования обнаружили двухфазность в целом ряде других анаэробных брожений: ацетоно-этиловом, пропионовокислом, бутилен-гликолевом, гетероферментативном молочнокислом и пр. [7]. В первой фазе всех этих брожений образуются более окисленные продукты, чем во второй.

Анализы соотношения кислот показывают, что маслянокислое брожение, как и другие, имеет двухфазный характер: вначале преобладает более окисленное соединение — уксусная кислота, позднее соотношение кислот сдвигается в сторону масляной кислоты (табл. 2).

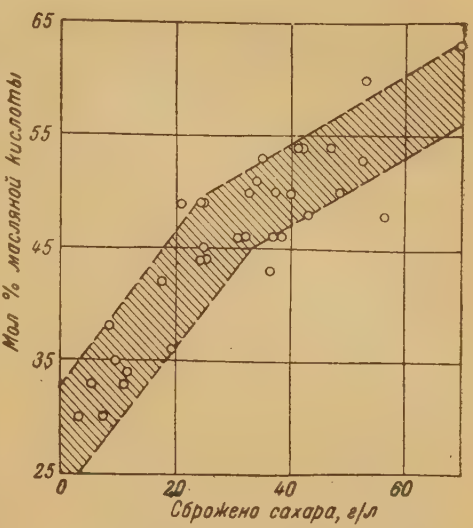


Рис. 4. Зависимость между количеством сброженного сахара и соотношением образовавшихся кислот. Масляная кислота выражена в процентах к общей кислотности

Таблица 2

Состав среды	1-я серия			2-я серия		
	№ последовательных анализов	Образовалось кислот мл 0,1 *N* в 10 мл	% масляной кислоты	№ последовательных анализов	Образовалось кислот мл 0,1 *N* в 10 мл	% масляной кислоты
Картофельный затор	1	9,4	33	1	9,6	34
	2	35,9	50	2	28,1	46
Минерально-сахарозная среда	1	4,6	33	1	3,1	30
	2	9,8	35	2	6,4	30
	3	12,9	41	3	8,8	40
	4	17,6	54	4	11,9	50
Минерально-сахарозная среда с 0,2% пептона и 5% дрожжевого автолизата	1	6,8	38	1	7,9	35
	2	13,9	42	2	15,7	36
	3	19,1	45	3	19,3	44
	4	25,4	53	—	—	—

На рис. 4 объединены данные по 34 брожениям, полученные в 1945—1949 гг. независимо друг от друга разными работниками. Вполне понятно, что эти данные не совсем между собой совпадают. Несмотря на это,

основная закономерность видна вполне отчетливо: чем больше сброжено сахара, чем, следовательно, дальше прошло брожение, тем сильнее молярное соотношение кислот сдвинуто в сторону масляной кислоты.

Видоизменения онтогенеза маслянокислой культуры

Как уже говорилось, при изменении условий культивирования, не выходящем за пределы нормы потребностей данных бактерий, онтогенез культуры может заметным образом видоизмениться. Такие видоизменения являются легкообратимыми, и после перенесения культуры в прежние условия ее онтогенетическое развитие снова идет по-старому. В качестве примера рассмотрим, как влияет на ход развития культуры маслянокислых бактерий содержание в среде питательных компонентов.

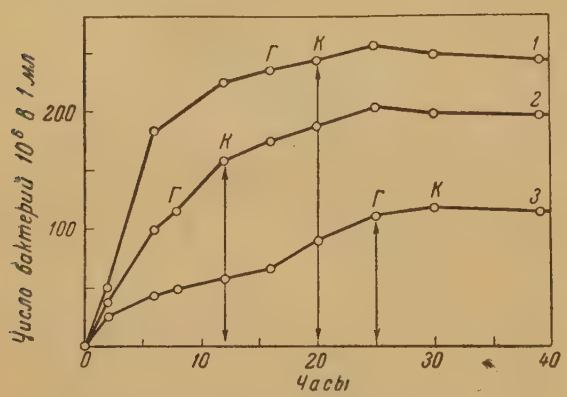


Рис. 5. Кривые роста культуры на трех средах (объяснения см. в тексте)

1 — богатая; *2* — контроль; *3* — бедная. *Г* — появление гранулезной реакции; *К* — появление клостридиев

В описанных ниже опытах контрольной средой служил 35%-ный картофельный затор. Он содержит в должном количестве все необходимые факторы питания типа витаминов, но усвояемых источников азота в нем не очень много, так как маслянокислые бактерии не способны расщеплять белки, составляющие основную массу азотистых веществ картофеля.

Вторая («богатая») среда состояла из минеральных солей и сахара (состав ее см. выше) с добавлением еще 5% дрожжевого автолизата (около 0,25% по сухому весу) и 0,2% протеозного пептона Дифко. Состав органических питательных веществ можно было варьировать: так, в некоторых опытах бралось 2% автолизата и 1% гидролизата казеина. Богатая среда столь же полноценна по содержанию витаминов, как и затор, но содержит в себе значительно больше растворимого органического азота.

Третья («бедная») среда состояла из одних минеральных солей и сахара. Кроме них, в ней присутствовали те ничтожные количества органических факторов питания, которые были внесены вместе с посевным материалом. Посевной материал в описываемых здесь опытах готовился на 25%-ном картофельном заторе и вносился в количестве 2 объемных процентов.

На рис. 5 даны характерные кривые роста культуры на трех вышеуказанных средах. Как и следовало ожидать, наиболее быстрый и пышный рост культуры наблюдается на богатой среде, следом за ней идет контрольный затор и на последнем месте расположена бедная среда. Так влияет концентрация питательных веществ на рост культуры.

Что касается влияния на развитие культуры, то оно оказывается более сложным. Одним из показателей хода развития маслянокислой культуры может служить появление в ней гранулезосодержащих клеток, а затем — клостридиально утолщенных форм. Из рис. 5 можно видеть, что при избытке азота рост культуры усиливается, но темп развития ее замедляется: гранулезная реакция и клостридии появляются на богатой среде заметно позже, чем на картофельном заторе. На бедной среде за-

медляется как рост, так и развитие культуры: первые клостридии образуются здесь позже, чем на двух других средах.

Однако на бедной среде рост замедляется сильнее, чем развитие. Клостридиальные формы появляются здесь при меньшей величине биомассы культуры, чем на двух других средах (см. стрелки на рис. 5).

Таким образом, по интенсивности своего развития (понимая под «интенсивностью» соотношение между развитием и ростом) культуры располагаются в обратном порядке, чем по темпу и величине роста: с наибольшей интенсивностью созревает бедная культура, с наименьшей интенсивностью — богатая.

Об интенсивности развития (созревания) культуры можно судить и по другим показателям, например, по соотношению образующихся кислот, которое, как уже было сказано, по мере развития культуры сдвигается в сторону масляной.

В табл. 3 приведены средние данные, показывающие, как повышается относительное количество масляной кислоты в зависимости от количества сброженного сахара, которое в свою очередь находится в прямой связи с ростом культуры. Можно видеть, что на бедной среде процентное содержание масляной кислоты увеличивается более резко, чем на богатой. Следовательно, бедная культура созревает более интенсивно, чем богатая.

Таблица 3

Сброжено сахара г/л	Молярные проценты масляной кислоты (среднее)	
	богатая среда	бедная среда
4—7	—	32
9—11	36	37
16—19	39	47
24—25	46	54
35	53	—

Перейдем теперь к вопросу о влиянии состава среды на процесс спорообразования. Процесс этот имеет двустадийный характер. Первая стадия приводит к тому, что бактериальные клетки приходят в состояние физиологической готовности к спорообразованию. Для прохождения этой стадии необходимо, чтобы бактерии росли и размножались при оптимальных условиях среды, при которых все их природные физиологические потребности удовлетворяются в достаточной мере. Внешним признаком прохождения первой стадии служит появление в клетках гранулезы.

Вторая стадия состоит в реализации способности к спорообразованию, т. е. в том, что клетки фактически превращаются в споры. Для осуществления второй стадии необходимо, чтобы в среде истощились запасы питания, главным образом — источники азота. Все другие внешние условия (температура, pH, анаэробиоз, содержание сбраживаемых углеводов и пр.) должны оставаться попрежнему оптимальными.

Необходимо здесь напомнить о заметных индивидуальных различиях между клетками в культуре. Различия эти объясняются отчасти неоднородностью посевного материала, отчасти гетерогенностью питательной среды, в силу чего отдельные клетки попадают в неодинаковые условия питания. Поэтому о том, насколько благоприятны условия среды для прохождения первой стадии спорообразования, мы можем судить по относительному числу клеток (в процентах к общей численности культуры), накопивших в своей протоплазме отложения гранулезы. О прохождении второй стадии спорообразования мы можем судить по относительному числу клеток, фактически приступивших к спорообразованию, т. е. готовых спор и клостридиев, содержащих внутри видимую проспору.

Бедная среда, как и следовало ожидать, неблагоприятна для прохождения первой (подготовительной) стадии спорообразования: количество гранулезосодержащих клеток на этой среде обычно не превышает 20—30%, тогда как на богатой среде и на контрольном заторе грануле-

зосодержащие формы достигают 50—70% к общему числу клеток в культуре (речь, конечно, идет о прогрессивном периоде развития культуры, пока численность ее еще не начала понижаться вследствие отмирания).

Напротив, для осуществления второй стадии спорообразования бедная среда более благоприятна, чем две другие. Об этом можно судить по тому, что на бедной среде почти все гранулезные клетки позднее превращаются в клостридии и споры.

Картофельный затор менее благоприятен для второй стадии спорообразования, так как имеющиеся в нем запасы органического питания истощаются не так легко. Этим и объясняется, что на заторе между появлением первых гранулезосодержащих клеток и сформированием готовых спор проходит значительное время (см. выше). Кроме того, на заторе только около $^2/_3$ — $^3/_4$ гранулезосодержащих клеток удается перейти в клостридиальную форму. Еще меньшее число клеток успевает превратиться в зрелые споры.

Наименее благоприятна для второй стадии богатая среда. Поэтому процент спорообразующих клеток на этой среде наиболее низок; лишь около половины гранулезосодержащих клеток превращается здесь в клостридии и споры.

В заключение остановимся на том, как влияет состав среды на морфологию культуры. На богатой среде и на картофельном заторе удлиненные эмбриональные формы в дальнейшем распадаются на клетки нормальных размеров. Но на бедной среде многие из них не имеют возможности перейти на следующие этапы развития — они так и остаются удлиненными. По мере старения культуры эти формы еще более удлиняются, искривляются и дряхлеют. Они становятся оксифильными и почти перестают краситься слабыми растворами основных красок (рис. 3, *IV*).

На богатой среде в период зрелости культуры появляются клетки с двумя плотными зернами по концам, а иногда еще и с третьим в середине клетки (рис. 3, *I*). На контрольном заторе такие формы встречаются редко. Зерна бывают хорошо заметны и на живых препаратах. Мы уже упоминали о них в начале статьи.

Какова природа этих зерен?

Микрохимические реакции показывают, что эти зерна не растворяются в спирте, ксилоле, уксусной кислоте и кипящей воде. Раствором Люголя они окрашиваются в бледножелтый цвет. Водный раствор метиленовой сини окрашивает их в голубой цвет того же оттенка, как и остальную часть протоплазмы, но более интенсивно. При окраске эритрозином основная масса клетки остается почти бесцветной, а зерна становятся яркорозовыми.

Таким образом, интересующие нас включения нельзя считать ни липоидами, ни волютином, ни гликогеном, ни гранулезой, ни хроматиновыми тельцами. Повидимому, они являются белковыми телами, но отличаются от остальной протоплазмы большей плотностью и большей оксифильностью. Последнее видно из того, что после покраски эритрозином и дополнительной покраски разбавленным раствором метиленовой сини участки между зернами принимают голубой цвет, а зерна остаются красными с багровым оттенком (рис. 3, *I*, *Б*).

Мы попытались определить изоэлектрическую точку этих зерен. С этой целью фиксированный спиртом препарат окрашивался слабыми водными растворами кислых и основных красок при различных pH. В качестве кислых красок мы применяли эритрозин, кислый фуксин и, с меньшим успехом,— оранж G. В качестве основных красок — метиленовую синь и основной фуксин.

Как известно, в зоне pH, лежащей значительно ниже изоэлектрической точки протоплазматических белков, последние воспринимают только

кислые краски; при pH выше изоэлектрической точки они окрашиваются лишь основными красками; в зоне pH, близкой к их изоэлектрической точке, белки окрашиваются одинаково слабо как кислыми, так и основными красками.

Оказалось, что изоэлектрическая точка зерен лежит где-то в пределах зоны pH = 5—6,5, характерной для большинства простых белков (протеинов). У протеидов, особенно же нуклеопротеидов, изоэлектрическая точка более низкая.

Сказанное здесь делает очень вероятным, что интересующие нас включения представляют собой простые белки (не протеиды). Можно полагать, что они выполняют роль запасных отложений, поскольку они образуются главным образом на средах, богатых растворимым органическим азотом, и притом в период зрелости культуры. Клетки, содержащие такие белковые отложения, являются, повидимому, вполне жизнеспособными, хотя при менее внимательном изучении они могут быть спутаны с вакуолизированными, дегенеративно изменившимися формами (рис. 3, *III*). Возможно, что именно по этой причине клетки с белковыми отложениями, насколько мне известно, в литературе не были описаны.

Выводы

Настоящая работа служит примером «онтогенетического анализа», примененного к культуре маслянокислых бактерий. Под «онтогенетическим анализом» подразумевается совокупность исследований, целью которых является выяснение хода нормального онтогенеза и выявление условий среды, необходимых для этого.

В работе дана характеристика четырех основных периодов онтогенеза: эмбрионального, ростового, периода зрелости и периода старости культуры. Показано, что период зрелости, началом которому служит появление первых клостридиев, у маслянокислых бактерий наступает очень рано, но растягивается в дальнейшем на длительное время. Описана возрастная изменчивость бактерий и этапы спорообразования. Показано, что по мере хода развития культуры соотношение образуемых ею кислот сдвигается в сторону масляной кислоты.

Путем сравнения развития культуры на средах различной степени питательности было выяснено, что избыток хорошо усвояемого азота усиливает рост, но замедляет развитие культуры. О ходе развития культуры можно было судить по ходу процесса спорообразования и по изменению соотношения кислот. Недостаток органических факторов питания типа витаминов и аминокислот ослабляет весь темп жизни культуры. Однако рост замедляется значительно сильнее, чем развитие (созревание) культуры, вследствие чего соотношение между развитием и ростом («интенсивность развития») сдвигается в сторону развития.

Показано, что процесс спорообразования имеет двустадийный характер. Первая стадия состоит в том, что бактерии приобретают способность к спорообразованию. Эта способность вырабатывается только у бактерий, выросших при оптимальных условиях питания. Вторая стадия заключается в реализации приобретенной способности, т. е. в фактическом формировании клостридиев и спор. Для прохождения второй стадии требуется недостаток источников азота. Поэтому на более полноценных средах большее число бактерий проходит первую стадию, признаком чего служит отложение в них гранулезы. Однако, благодаря избытку азота, бо́льшая часть таких клеток не может пройти вторую стадию и закончить процесс спорообразования. Напротив, на бедной среде число способных к спорообразованию клеток бывает невелико, но зато почти все они позднее превращаются в клостридии и споры.

При недостатке факторов питания значительное число удлиненных эмбриональных клеток оказывается не в состоянии превратиться в нор-

мальные зрелые клетки. Они удлиняются еще больше, становятся оксифильными и постепенно дряхлеют.

При избытке в среде растворимого органического азота в клетках образуются два-три сильно преломляющих свет шарообразных включения, которые, повидимому, следует считать отложениями запасных белковых веществ.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 3. VI. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бехтерева М. Н. и Иерусалимский Н. Д. Динамика и баланс ацетонобутилового брожения. Микробиология, V, 777, 1936.
2. Иерусалимский Н. Д. О физиологических стадиях в развитии бактерий. Микробиология, XV, 405, 1946.
3. Иерусалимский Н. Д. Азотное и витаминное питание микробов. Изд-во АН СССР, 1949.
4. Лысенко Т. Д. Агробиология, Москва 1948.
5. Мантейфель А. Я. Обзор литературы по маслянокислым бактериям. Микробиология, VIII, 671, 1939.
6. Мантейфель А. Я. Сравнительная характеристика возбудителей маслянокислого и ацетоно-бутилового брожения. Микробиология, VIII, 1096, 1939.
7. Шапошников В. Н. и Семенова В. А. О материальной взаимосвязи процессов энергетического и конструктивного обменов веществ у бактерий. Микробиология, XVIII, 106, 1949.

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ НА АКТИВНОСТЬ АНТИБИОТИКОВ

Н. А. Красильников и *Н. И. Никитина*

В условиях естественного обитания, в окружении многочисленных конкурентов, микроорганизмы приобретают те или иные средства борьбы за свое существование. Эти средства различны у разных микробов. Одни из них вырабатывают особые вещества — антибиотики, которые действуют на микробную клетку как яды. Эти вещества различны по своей природе и свойствам и соответствуют видовой характеристике микробов, образователей таких веществ.

Другие микроорганизмы как средства в борьбе за существование вырабатывают противоядия, при помощи которых защищаются от токсического действия антибиотиков.

Было бы неправильным полагать, что в историческом развитии одни виды микробов в борьбе за существование эволюционируют, приобретают способность вырабатывать антибактериальные средства, а другие остаются беззащитными. В таком случае последние должны были бы погибнуть. Какие бы токсические вещества ни вырабатывали микробы против конкурентов, последние в процессе приспособления должны приобрести способность образовывать соответствующие противоядия. Мы полагаем, что нет такого токсина, по отношению которого не вырабатывались бы микробами антитоксины или вещества, разрушающие их.

При исследовании микробных популяций в природных субстратах в почве, илах, в воде и на различных растительных и животных остатках — мы обнаруживаем, наряду с организмами, образующими антибиотики, много таких форм, которые вырабатывают вещества, инактивирующие эти антибиотики.

Совершенно естественно, что такие виды не могли не привлечь нашего внимания при изучении вопросов взаимоотношения микроорганизмов. Они изучались нами с различных точек зрения. Здесь мы приводим только тот материал, который касается инактивации антибиотиков.

В 1943 г. один из нас (Красильников [1]) отмечал, что активность мицетина, аспергиллина и других антибиотических веществ заметно снижается в присутствии в среде бактерий или продуктов их жизнедеятельности.

При воздействии указанными антибиотическими веществами на стафилококка (Staphylococcus aureus), выделенного из гнойной раны больного, было установлено, что антибактериальный эффект их значительно снижается в смешанных культурах. Например, мицетин (спиртовая фракция сырого вещества) в разведении 1 : 10 000 полностью подавляет рост чистой культуры стафилококка, а в присутствии Bact. proteus или других видов бактерий антибактериальный эффект либо совсем не проявляется, либо выражен весьма слабо (табл. 1).

Эти опыты показали, что среди микроорганизмов существуют виды, защищающие стафилококков от губительного действия антибиотиков.

Позже мы испытали некоторые культуры бактерий для защиты растений от токсического действия веществ, выделяемых Bact. subtilis и Ps. pyocyanea.

Предварительно было найдено, что продукты жизнедеятельности этих двух микробов (фильтрат трех — пятисуточной культур) резко по-

Таблица 1

Влияние антибактериальных веществ на смешанные культуры бактерий

(Число клеток стафилококка в тысячах на 1 мл среды)

Вариант опыта	Мицетин 1 : 10000	Аспергиллин 1 : 100
St. aureus (чистая культура)	0	0
„ +Bact. proteus	10 000	0
„ +Bact. coli	10 000	0
„ +Bact. liquefaciens . . .	0	1
„ +Ps. pyocyanea	0	1
„ +Ps. fluorescens	100 000	0
„ +Mycobact. album	0	0

давляют прорастание семян клевера, т. е. являются токсическими для последних. Если к этим токсинам прибавлялись фильтраты бактерий-защитников, то токсический эффект снижался или совсем устранялся (табл. 2).

Таблица 2

Инактивация «токсинов» продуктами жизнедеятельности бактерий

«Токсины» культур / Фильтраты бактерий	Bac. subtilis		Ps. pyocyanea	
	проросло семян	высота ростков в см	проросло семян	высота ростков в см
Контроль чистый (без токсинов и без фильтратов)	25	4,0	24	4,2
Контроль (обработанный токсином без фильтрата)	0	—	0	—
Обработаны токсином и затем фильтратом культур:				
Bact. repens	18	3,0	12	2,2
Bacillus sp.	21	4,5	5	1,7
Bact. fluorescens	24	4,8	0	—
Actinomyces albus . . .	10	2,4	18	4,0

Примечание. В каждом опыте было использовано по 25 семян.

В последние годы в литературе описаны многие органические соединения — продукты жизнедеятельности микроорганизмов, которые инактивируют пенициллин, стрептомицин и другие антибиотики.

Вещества, инактивирующие антибиотики, различны по химическому составу. Пенициллин, например, разрушается энзимом-пенициллиназой, вырабатываемой многими бактериями. Органические кислоты — пировиноградная, фумаровая, янтарная и другие — инактивируют стрептомицин. Антибактериальное действие последнего подавляется цистеином и другими соединениями (см. Красильников [2]).

Придавая определенное биологическое значение бактериям в инактивации антибиотических веществ, мы провели специальные исследования в этом направлении.

Для опытов были взяты чистые препараты пенициллина и стрептомицина, а также мицетина.

Этими антибиотиками мы действовали на культуру тест-организма St. aureus в присутствии продуктов жизнедеятельности различных бактерий.

Были испытаны различные представители спороносных и неспоронос-ных грамположительных и грамотрицательных бактерий. Значительная часть их была выделена нами из почв, а некоторые культуры взяты из коллекции лаборатории. Всего обследовано около 30 культур: Bact. coli, Bact. prodigiosum, Bact. sp. шт. 10, 12, 15, 16 и др.; Ps. aurantiaca, Ps. fluorescens шт. 20, 35, и др.; Azotobacter chroococcum, Az. vinelandii шт. 7а, 7б; Mycobact. album шт. 15; Mycobact. flavum, Mycobact. rubrum и другие, и спороносные бактерии Bac. subtilis, Bac. mesentericus, Bacillus sp. шт 1 и другие.

Методика

Микроорганизмы, намеченные для опытов, выращивались в МПБ в течение одних-двух суток при оптимальной температуре (28—35°), затем культуральная жидкость отделялась от бактерий путем фильтрования через бактериальные фильтры Зейтца. Фильтраты прибавлялись к среде, в которой испытывалось действие антибиотика. Такой средой был обычно мясопептонный бульон.

Бульон разливался по 5 мл в пробирки, к нему прибавлялся антибиотик в разных дозах, причем каждая доза вносилась в две параллельные пробирки. Получалось два ряда пробирок с каждым из антибиотиков.

В один ряд пробирок вносился фильтрат бактериальной культуры, другой ряд оставался контрольным (без фильтрата).

Все пробирки засевались тест-организмом — стафилококком (St. aureus 209) и помещались в термостат при 37° на 20 часов. По росту стафилококка в бульоне определялась эффективность фильтратов. При этом мы учитывали только либо наличие, либо полное отсутствие роста; степень задержки или торможения роста (количественный эффект) не определялась.

Концентрации растворов антибиотиков для опытов брались произвольные, не слишком большие и не слишком малые. Предварительно каждый раствор проверялся титрованием по тест-организму.

Результаты этих исследований сведены в табл. 3. В ней приведены выборочные данные с фильтратами отдельных культур бактерий. Цифры в таблице означают максимальные разведения антибиотика, вызывающие подавление роста стафилококка.

Таблица 3

Влияние фильтратов бактериальных культур на активность антибиотиков

(Предельный титр антибиотиков)

Фильтраты бактерий	Мицетин	Пенициллин	Стрептомицин
Контроль (без фильтрата) . .	192	90 000	700
С фильтратом культур: . . .			
Bact. coli	192	5 000	700
„ prodigiosum . .	192	75 000	700
Bact. шт. 8	192	800	700
шт. 9	192	400	700
шт. 10	20	90 000	06
шт. 35	192	400	700
Ps. aurantiaca . . .	768	640	700
„ fluorescens . . .	192	60 000	100
Bac. mesentericus .	96	300	700
„ sp. шт. 1 . . .	192	0	3 000

Остальные бактерии не оказывали никакого влияния на эффективность антибиотиков.

Приведенные в таблице данные показывают, что прибавление продуктов жизнедеятельности некоторых бактерий оказывает большое влияние на активность испытанных антибиотических препаратов.

Влияние это различное, в зависимости от вида бактерий и от антибиотика. Мы часто имели инактивацию антибиотиков; редко отмечалось усиление антибактериального действия. Многие бактерии не оказывали никакого эффекта.

В наших опытах пенициллин оказался наименее устойчив к действию бактериальных фильтратов. Инактивация, или понижение титра его, заметно проявлялась в присутствии фильтратов многих бактерий: Ps. aurantiaca, Bact. sp. шт. 9, 8, 35, Bac. mesentericus. Некоторые микроорганизмы (Bacillus sp. шт. 1) полностью инактивировали данный препарат. Мы не имели ни одной культуры бактерий, которые усиливали бы активность пенициллина.

Стрептомицин значительно устойчивее к воздействию бактериальных фильтратов. Из всех испытанных культур только две (Bact. sp., шт. 10 и Ps. fluorescens) снижали антибактериальный эффект препарата.

Мицетин инактивировался фильтратами двух бактерий — Bact. sp. шт. 10 и Bac. mesentericus.

Усиление антибактериального действия антибиотиков фильтратами мы наблюдали значительно реже. Фильтрат от одного штамма спороносных бактерий (№ 1) усиливал в наших опытах действие стрептомицина в четыре с половиной раза. Фильтрат от одной культуры неспороносных бактерий (Ps. aurantiaca) усиливал действие мицетина в четыре раза.

Фильтраты бактерий, усиливающих активность антибиотиков, сами по себе не оказывали антибактериального влияния в той же постановке опытов.

Следовательно, повышение эффективности препаратов в наших опытах нельзя объяснить суммарным действием двух веществ. Повидимому, здесь происходят какие-то более глубокие химические взаимодействия веществ, ведущие к активизации антибиотика.

Нами проведены ориентировочные исследования с коллекцией бактерий, изолированных при случайных загрязнениях опытных сосудов с продуцентами стрептомицина. При этих загрязнениях выход антибиотика чаще всего резко снижается. Были отобраны 22 культуры. Из них 10 — неспороносных бактерий из рода Bacterium (шт. 1, 3, 4, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 16), 2 культуры из рода Pseudomonas (шт. 21 и 27); 6 культур из рода Micrococcus (шт. 2, 5, 6, 10, 12, 17), 2 культуры спороносных бактерий (шт. 11, 18) и 2 культуры микобактерий (шт. 24, 26).

Живыми клетками этих бактерий мы заражали культуры актиномицетов, продуцирующих стрептомицин, и наблюдали ход их развития и образование антибактериальных веществ.

Опыты ставились в колбах, в условиях глубинного роста (в качалках). Культуры актиномицетов выращивались на среде с растительными экстрактами (кукурузным, хлопковым). Заражение производилось на вторые или третьи сутки роста актиномицета односуточными культурами бактерий, выросшими на МПБ при 25°.

Эти исследования показали, что на синтетической среде бактерии в культурах актиномицета Act. globisporus streptomycini развиваются значительно слабее, чем в среде с растительными экстрактами. Из 22 испытанных организмов развивались на синтетической среде только 12, а в среде с кукурузным экстрактом — все 22, если их высевали одновременно с актиномицетом. Если же бактерии высевались спустя два-три часа, когда актиномицет достаточно уже развился, то многие бактерии уже не в состоянии были развиваться.

На среде с растительными экстрактами (хлопковым, кукурузным) 8 штаммов бактерий (1, 2, 6, 8, 12, 13, 24, 27) совсем не развивались и не изменяли ни процесса дальнейшего роста актиномицета, ни образования активного вещества. На синтетической среде при высеве в двухтрехсуточную культуру актиномицета вырастали только четыре штамма — 4, 14, 10, 16 из всех испытанных бактерий.

В табл. 4 мы приводим данные о развитии бактерий и влиянии их на образование антибактериальных веществ в культуре актиномицета на кукурузной среде.

Среда разливалась в колбы по 100 мл в каждую и засевалась активным штаммом актиномицета Act. globisporus streptomycini. Колбы помещались в качалки с числом оборотов 120 в минуту. Температура 24—25°. Через двое суток после нарастания значительного количества мицелия было произведено заражение культур бактериями по одной капле (примерно по 100 000 клеток) односуточной культуры с МПБ. После этого колбы снова были поставлены в качалки и каждый день производился анализ на активность и количество бактериальных клеток в среде.

Полученные данные подтвердили результаты опытов с бактериальными фильтратами. Так же, как и в предыдущих опытах, разные виды бактерий по-разному влияют на образование и накопление в среде стрептомицина. Большинство бактериальных культур (8 из 14) подавляет образование стрептомицина в большей или меньшей степени (табл. 4).

Таблица 4

Влияние бактерий на накопление в среде стрептомицина

(Число клеток бактерий в тысячах, титр активного вещества в стафилококковых единицах в 1 мл среды)

Название бактерий	Продолжительность опыта в сутках							
	3		4		5		7 суток	
	количество бактерий	титр	количество бактерий	титр	количество бактерий	титр	количество бактерий	титр
Контроль (без бактерий) . . .	0	180	0	400	0	250	0	120
Bacterium шт. 3	1000	80	1000	60	1000	10	100	0
„ 4	1000	0	1000	0	1000	0	100	0
„ 7	0,2	10	0	120	0	160	0	100
„ 14	1,0	60	1,5	40	1,0	20	50	0
„ 15	0,1	180	10	460	10	300	1	180
Bacillus sp. „ 18	10	10	100	0	1	0	1	0
Micrococcus шт. 17	10	60	10	120	100	40	10	0

Характер действия бактерий на активное антибиотическое вещество различен. В одних случаях бактерии развиваются в среде обильно, активность антибиотика падает медленно; на пятые сутки еще можно обнаружить 10—40 ед/мл активного вещества (шт. 3, 17). В других случаях быстрое развитие бактерий ведет к быстрому исчезновению активного вещества (шт. 4).

Имеются бактерии, которые медленно развиваются в среде с продуцентом стрептомицина, слабо способствуют накоплению последнего или совсем устраняют его (14, 18).

Иногда в первые дни роста бактерий титр активного вещества стрептомицина достигает значительных количеств — 100—120 ед/мл, а затем быстро падает (шт. 17). Значительно реже наблюдается сохранение активности при наличии в среде бактерий. В наших опытах только три

культуры (шт. 7, 9 и 15), развиваясь с актиномицетами, не инактивировали полностью стрептомицин. Последний сохранялся в титре 100—160 ед/мл до конца опыта (7 суток).

В одном случае мы наблюдали заметное усиление образования антибактериальных веществ в присутствии бактерий (шт. 15). На протяжении всей ферментации титр был выше в смешанной культуре, чем в контрольных колбах без бактерий. Неоднократно повторенные опыты исключают ошибку технического порядка. Поэтому были предприняты дополнительные исследования этой бактериальной культуры. Специальными опытами было установлено, что Bact. sp. шт. 15 образует сам антибактериальное вещество в значительных количествах, до 500 стафилококковых единиц в 1 мл. Образуется оно в той же среде и в присутствии актиномицета. Следовательно, необычно высокие титры антибактериальных веществ, наблюдаемые в этих наших опытах в смешанных культурах, объясняются суммированием двух разных антибиотиков — стрептомицина и другого, образуемого бактериями (шт. 15).

Возможно, что в отдельных случаях, при массовом развитии бактерий в сосудах, накапливается вещество только бактериального происхождения.

В том и другом случае активные вещества удается отличить по антибактериальному спектру.

Снижение антибактериального титра в культурах актиномицета в присутствии бактерий обусловлено двумя причинами. В одних случаях бактерии подавляют процесс образования антибиотика, иными словами, действуют на внутренний биохимический, энзиматический аппарат продуцента. В других — снижение титра вызывается инактивацией вещества в среде продуктами обмена веществ бактерий. Продукты жизнедеятельности штамма 21 (фильтрат трехсуточной культуры), прибавленные в количестве 0,5 мл к 1,5 мл нативного стрептомицина, полностью инактивировали последний. Инактивацию стрептомицина бактериями мы отмечали и в предыдущем разделе.

На основании приведенных данных можно заключить, что многие бактерии оказывают вредное действие на образование и на накопление стрептомицина в культуре актиномицетов. Получаемые иногда в опытах высокие выходы антибактериальных веществ в присутствии бактерий могут относиться не к стрептомицину, а к смеси двух и более различных антибиотиков.

Выводы

1. Было изучено влияние продуктов жизнедеятельности бактерий на активность стрептомицина, пенициллина и мицетина.
2. Установлено, что разные бактерии оказывают различное действие на антибиотики. Одни виды подавляют активность, другие усиливают, а третьи не оказывают никакого действия на антибиотики.
3. Из испытанных антибиотиков наиболее быстро и легко инактивируется бактериями пенициллин, затем стрептомицин, более устойчив мицетин.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 16. V. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Влияние лечебных препаратов на микрофлору ран Журн. микроб., эпид., иммуноб., № 9, 63 1944.
2. Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. Изд. АН СССР, Москва, 1950.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРВЫХ ЭТАПОВ ПРОЦЕССА ФИКСАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА АЗОТОБАКТЕРОМ

М. В. Федоров

В предыдущих работах [1, 2, 3] приводились экспериментальные данные, указывающие на наличие в протоплазме клеток азотобактера особого катализатора, принимающего непосредственное участие в фиксации молекулярного азота. Этот каталитический агент участвует в процессе фиксации, повидимому, своими карбонильными группами, так как многократное вымораживание клеток азотобактера делает их малоактивными и почти неспособными фиксировать атмосферный азот, а аскорбиновая кислота и некоторые другие соединения, добавляемые в такие культуры, восстанавливают у них эту утерянную способность [4]. Такое воздействие аскорбиновой кислоты может быть связано только с тем, что она, подвергаясь дегидрированию, может дать две рядом расположенные карбонильные группы и замещать выпавшее при замораживании активное звено катализатора. В этом случае образование свободных карбонильных групп может происходить за счет дегидрирования гидроксильных групп у двух углеродных атомов, связанных между собой двойной связью:

$$R-\underset{\underset{OH}{|}}{C}=\underset{\underset{OH}{|}}{C}-R_1 \xrightarrow[(+\,{}^1/_2O_2)]{(-2H)} R-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-R_1 \qquad (1)$$

Дегидрирование этих групп может осуществляться или за счет воздействия активного кислорода, или же какого-нибудь другого окислителя с близким окислительно-восстановительным потенциалом, отвечающим +200 мв — +300 мв. А если это так, то кислород следует считать косвенным участником процесса фиксации, а не конкурентом азота в этом процессе. Хотя в литературе и имелись указания, что кислород является антагонистом азота, но он выявляет свои антагонистические свойства только при очень высоких концентрациях. Как показали исследования Мейергофа и Бэрка (Meyerhof u. Burk [8]), для создания антагонистических отношений между кислородом и азотом требуется наличие кислорода в газовой смеси, превышающее 60% ее объема. При меньшем же содержании кислорода в среде (22% газовой смеси) или же очень низком содержании (1% газовой смеси) он не только не препятствует фиксации атмосферного азота, но даже способствует этому процессу. Если в первых фазах фиксации действительно участвуют две рядом расположенные карбонильные группы, то молекулярный водород и другие восстановители с низким окислительным потенциалом должны понижать фиксацию атмосферного азота:

$$R-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-R_1 + 2H \text{ (или } H_2) \rightarrow R-\underset{\underset{OH}{|}}{C}=\underset{\underset{OH}{|}}{C}-R_1 \qquad (2)$$

Такое воздействие окислителей и восстановителей легко устанавливается экспериментально и может служить подтверждением возможности

именно такого хода процесса на первых этапах связывания атмосферного азота.

Перекись водорода, повышая окислительный потенциал среды, будет способствовать образованию карбонильных групп и благоприятно влиять на фиксацию, а гидрохинон, понижая окислительный потенциал, окажет тормозящее влияние на образование этих групп и тем самым снизит продуктивность фиксации. Данные нижеследующих таблиц показывают, что это именно так и происходит.

Таблица 1

Влияние на фиксацию азота атмосферы Azotobacter agile перекиси водорода

Концентрация перекиси водорода в среде в молях	Потреблено сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Фиксировано азота атмосферы в мг			Интенсивность фиксации в %
			на 1 г сахара в отдельной культуре	на 1 г сахара в среднем	на 1 г-моль гексоз	
0,00	1,80 1,80	100,0	9,03 9,35	9,19	1654,2	100,0
0,002	1,80 1,80	100,0	9,65 10,26	9,96	1792,8	108,4
0,004	1,80 1,80	100,0	10,35 9,10	9,73	1751,4	105,9
0,008	1,80 1,80	100,0	8,85 9,27	9,06	1630,8	98,7
0,016	1,80 1,80	100,0	9,60 9,10	9,35	1683,0	101,7
0,032	1,70 1,65	93,1	9,11 9,65	9,38	1688,4	102,7
0,064	1,70 1,75	95,8	10,01 11,81	10,91	1963,8	118,7
0,128	1,50 1,20	75,0	9,33 12,25	10,79	1942,2	117,4

Все наши опыты ставились с Azotobacter agile на питательной среде (наша модификация) с 0,1 моля инвертного сахара в качестве источника углерода и в колбах Эрленмейера объемом на 300 мл (в колбе 100 мл среды). Продолжительность опытов варьировала от 2 до 4 недель. По окончании опыта неиспользованный сахар определялся по Бертрану, а общий азот — по Кьельдалю.

Высокие дозы перекиси водорода очень сильно инактивируют окислительные процессы, а затем и вовсе их прекращают, но малые дозы оказывают на фиксацию азота атмосферы стимулирующее воздействие, хотя концентрация перекиси все время падает за счет разложения ее каталазой. Кроме того в присутствии перекиси водорода значительно замедляется и развитие азотобактера. Вероятно, поэтому в опытах Работновой [1] при 8-часовой длительности эксперимента не наблюдалось фиксации азота в присутствии значительных доз перекиси водорода.

При непосредственном участии свободных карбонильных групп в фиксации азота атмосферы стимулирующее влияние перекиси водорода вполне понятно, так же, как понятно и тормозящее влияние различных восстановителей, доставляющих в среду подвижные формы водорода. В их присутствии продуктивность азотфиксации должна понижаться. Это положение также оправдывается в опыте, как это можно видеть из данных табл. 1 и 2.

Использованные для этих опытов восстановители хотя и могут подвергаться довольно быстрым изменениям, однако они достаточно устойчивы, чтобы оказать угнетающее влияние как на процессы дыхания

Таблица 2

Влияние на фиксацию азота атмосферы Azotobacter agile восстановленных и окисленных соединений

Концентрация восстановителя в среде в молях	Потребление сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Фиксировано азота атмосферы в мг			Интенсивность фиксации в %
			на 1 г сахара в отдельной культуре	на 1 г сахара в среднем	на 1 г-моль гексоз	
Контроль	1,80 1,65	100,0	11,06 10,60	10,83	1949,4	100,0
Фенол						
0,0005	1,70 1,65	97,1	12,23 11,05	11,64	2095,2	107,5
0,001	1,80 1,60	98,6	11,27 9,00	10,14	1825,2	93,6
0,005	1,45 1,65	90,0	9,76 9,13	9,45	1701,0	87,3
Гидрохинон						
0,0005	1,60 1,65	94,2	10,57 9,14	9,85	1773,0	100,9
0,001	1,55 1,80	97,1	9,87 10,80	10,33	1859,4	95,4
0,005	1,60 1,70	95,3	10,00 9,03	9,53	1715,4	88,0
Пирогаллол						
0,0005	1,55 1,70	94,2	9,14 8,30	8,72	1569,6	80,5
0,001	1,45 1,60	88,4	5,70 6,13	5,92	1065,6	54,7
0,005	1,65 1,40	88,4	8,32 5,50	6,91	1223,8	63,8
Хинон						
0,0005	1,65 1,70	97,1	11,95 12,13	12,04	2167,2	111,1
0,001	1,65 1,65	95,3	14,46 12,60	13,53	2435,4	124,9
0,005	1,45 1,45	81,1	14,41 13,27	13,84	2491,2	127,9

(использования сахара азотобактером), так и на фиксацию азота атмосферы. При этом выявилась определенная закономерность: гидрохинон тормозит процесс фиксации больше, чем фенол, а пирогаллол — больше, чем гидрохинон. Из этого следует, что в основе торможения лежат восстановительные свойства этих веществ. Чем сильнее выражены эти свойства в веществе, тем более сильное угнетение процесса оно и вызывает. Вероятно, эти вещества доставляют в среду подвижные формы водорода, взаимодействующие с карбонильными группами катализатора азотфиксации и восстанавливающие их до спиртовых, в соответствии с нижеследующим уравнением:

$$R-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-R_1 + C_6H_4(OH_2) \rightarrow R-\underset{\underset{OH}{|}}{C}=\underset{\underset{OH}{|}}{C}-R_1 + C_6H_4O_2$$

Параллельное включение в опыт хинона показало, что он ведет себя иначе. Вместо понижения азотфиксирующей активности азотобактера, он заметно повышает ее. Основа такого влияния хинона также связана с его окислительным потенциалом. Обладая более высоким потенциалом, он способствует образованию свободных карбонильных групп, а тем самым и азотфиксации. Противоположное влияние хинона по сравнению

с гидрохиноном позволяет считать установленным, что основа тормозящего влияния использованных в этих опытах восстановителей связана только с подвижными формами водорода, так как при одном и том же радикале хинон и гидрохинон оказывают на азотфиксацию противоположное действие, зависящее только от высоты их окислительного потенциала.

Тормозящее влияние на азотфиксацию оказывают и другие вещества с резко выраженными восстановительными свойствами. Так, например, сероводород довольно резко угнетает процесс как в спокойных, так и взбалтывающихся культурах. Данные табл. 3 эту закономерность также подтверждают.

Таблица 3

Влияние сероводорода на фиксацию азота атмосферы Azotobacter agile в спокойных и взбалтывающихся культурах

Вариант опыта	Использовано сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Фиксировано азота атмосферы в мг			Интенсивность фиксации азота атмосферы в %
			на 1 г сахара в отдельной культуре	на 1 г сахара в среднем	на 1 г-моль гексоз	
Спокойные культуры						
1. Контроль	1,80 1,80	100,0	15,16 16,93	16,05	2889,0	100,0
2. +0,005 м Na_2S	1,55 1,55	86,1	10,40 9,04	9,72	1749,6	60,6
Взбалтывающиеся культуры						
1. Контроль	1,75 1,80	100,0	7,67 10,17	8,92	1595,6	100,0
2. +0,005 м Na_2S	1,50 1,50	84,5	8,65 7,25	7,95	1431,0	89,1

Таблица 4

Влияние на фиксацию азота атмосферы Azotobacter agile аконитовой и фумаровой кислот

Концентрация кислоты в среде в молях	Использование сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Фиксировано азота атмосферы в мг			Интенсивность фиксации азота атмосферы в %
			на 1 г сахара в отдельной культуре	на 1 г сахара в среднем	на 1 г-моль гексоз	
I. Аконитовая кислота						
0,000	1,70 1,75	100,0	16,05 15,90	15,48	2788,4	100,0
0,005	1,70 1,65	97,1	16,71 19,00	17,86	3214,8	115,4
0,010	1,70 1,70	98,6	17,38 17,00	17,19	3094,8	111,4
II. Фумаровая кислота						
0,005	1,80 1,70	97,2	16,90 17,83	17,37	3126,6	112,2
0,010	1,80 1,80	100,0	16,44 16,37	16,41	2953,8	106,0

При одинаковых условиях постановки опыта (кроме взбалтывания жидкости) сероводород сильнее тормозит азотфиксацию в спокойных

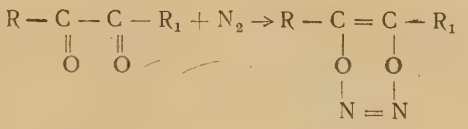
культурах, что, видимо, связано с созданием в них более резко выраженных восстановительных условий.

В отличие от сероводорода отдельные ненасыщенные органические кислоты, окислительные потенциалы которых близки или выше окислительного потенциала катализатора, должны оказывать благоприятное влияние на азотфиксацию, так как они будут акцептировать на себе водород гидроксильных групп и способствовать образованию свободных карбонильных групп.

Поэтому в присутствии ненасыщенных кислот фиксация азота атмосферы возрастает, что легко устанавливается данными табл. 4.

Янтарная же кислота, не имеющая ненасыщенных связей и не способная присоединять водород, дает иной результат. В ее присутствии фиксация атмосферного азота остается примерно на том же уровне, как и без нее.

На основе приведенного экспериментального материала следует считать весьма вероятным предположение, что первым этапом подготовки катализатора к фиксации является образование свободных карбонильных групп, по месту которых в дальнейшем и происходит присоединение адсорбированного коллоидным носителем молекулярного азота, возможно подвергающегося еще и предварительному активированию.



Такой ход реакции показывает, что активная группа катализатора азотфиксации должна представлять собой систему меняющихся двойных связей между атомами углерода и кислорода. Ее работа должна быть аналогичной работе желтого дыхательного фермента, который присоединяет два атома водорода также за счет смены двойных связей, но только между атомами углерода и азота. Разница между ними будет связана только с высотой окислительного потенциала и типом связей, по месту которых происходит взаимодействие. Если при активации водорода желтым ферментом относительно легко осуществляется такое взаимодействие, несмотря на значительную разницу в энергии связей, то активация и присоединение молекулярного азота должны совершаться у катализатора азотфиксации со значительно большей легкостью, так как этому процессу будет благоприятствовать освобождение энергии при смене связей и малая энергетическая емкость связи азота с кислородом (21 к-кал).

Дальнейший же процесс восстановления первичных продуктов фиксации молекулярного азота будет связан с воздействием на эти продукты активных форм водорода, доставляемых в реагирующую систему или вторичными дегидразами, или же промежуточными переносчиками. Такой ход процесса определяет и другое положение: добавление в среду соединений, дающих подвижные формы водорода при низких значениях окислительно-восстановительного потенциала (около —150 мв и более), когда конкуренция с карбонильной группой катализатора становится невозможной вследствие слишком большой разницы в потенциалах, должно приводить к повышению продуктивности азотфиксации, а не к понижению ее. И это положение полностью подтверждается опытом. Как нами уже указывалось [5], этиловый спирт, дегидрирующийся при —220 мв, повышает продуктивность фиксации на сахаре на 18—20% (в пределах 0,05—0,4 моля). Аналогичное воздействие в малых дозах (0,005—0,010 моля) оказывают изо-пропиловый спирт (окислительный потенциал соответствует — 240 мв), а также молочная кислота (окислительный потенциал около —160 мв), дающая повышение фиксации на

20—30%, и яблочная кислота (окислительный потенциал —160 мв), повышающая продуктивность фиксации также на 20—30%.

Таблица 5

Влияние на фиксацию азота атмосферы Azotobacter agile яблочной кислоты

Концентрация яблочной кислоты в среде в молях	Использовано сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Фиксировано азота атмосферы в мг			Интенсивность фиксации азота атмосферы в %
			на 1 г сахара в отдельной культуре	на 1 г сахара в среднем	на 1 г-моль гексоз	
0,000	1,80 1,80	100,0	11,65 11,64	11,65	2097,0	100,0
0,001	1,80 1,80	100,0	12,26 13,73	12,95	2331,0	111,1
0,005	1,65 1,70	93,0	15,02 15,05	15,04	2707,2	129,1
0,010	1,70 1,65	93,0	13,27 14,72	14,00	2520,0	120,2

Из всего вышеизложенного следует, что в фиксации азота атмосферы азотобактером участвуют свободные карбонильные группы. Первая связь азота с активной группой катализатора осуществляется через атомы кислорода и поэтому мало устойчива. В дальнейшем же происходит восстановление этого малоустойчивого субстрата, в результате которого образуются производные гидразина, вступающие во взаимодействие с кетокислотами и восстанавливающиеся далее до аминокислот, используемых на построение белковых веществ протоплазмы клеток азотобактера.

Как нами уже указывалось в предыдущих работах, фиксация атмосферного азота азотобактером является функцией его роста и в первую очередь определяется продуктивностью роста. Оба эти процесса весьма тесно связаны между собой и, повидимому, обусловливают друг друга, хотя в работе Работновой, Кондратьевой, Нетте и Аронес [1] и приводятся данные о возможности их разъединения при посредстве окислительно-восстановительных условий в среде. Культивируя азотобактер в среде с разным газовым составом, эти авторы обнаружили разную продуктивность азотфиксации как на бактериальную клетку, так и на 1 г сахара. Наибольшая продуктивность была получена при rH равном 22—24. Но так как культура продолжалась всего 8—10 часов и прирост азота в среде в большинстве случаев не превышал 1—2 мг (при максимальном расходе сахара в 178 мг), то расчеты продуктивности азотфиксации на 1 бактериальную клетку и на 1 г сахара дают слишком разноречивые результаты. Если пересчитать данные этих авторов с культурой Azotobacter agile для вариантов $^3/_4$ азота $+$ $^1/_4$ воздуха и $^3/_4$ кислорода $+$ $^1/_4$ воздуха и выразить их в процентах от продуктивности фиксации в среде с воздухом, то можно получить следующие результаты:

Продуктивность фиксации	Воздух	$^3/_4$ азота $+$ $+^1/_4$ воздуха	$^3/_4$ кислорода $+$ $+^1/_4$ воздуха
На 1 клетку	100	56,6	36,6
» 1 г глюкозы	100	76,6	20,4

Столь резкие различия в продуктивности фиксации на 1 клетку и на 1 г сахара дают основание считать, что расчет на 1 клетку мало пригоден для определения продуктивности азотфиксации. Эта малая пригодность определяется тем, что размеры клеток в разные периоды культуры весьма сильно варьируют и содержание в них азотистых веществ может заметно колебаться. Расчет фиксации на одну клетку можно было бы признать объективным критерием только при параллельном установлении однотипности размеров выросших клеток и однотипности содержания в них азотистых веществ. Так как указанные авторы не определяли размеров клеток азотобактера и процентного содержания в них азотистых веществ, то их утверждение, что в данном случае имел место разрыв между процессами фиксации и процессами роста не может считаться доказанным. Кроме того, потребление сахара в указанных опытах не превышало 178 мг, а накопление фиксированного азота 1—2 мг. При таких незначительных величинах малейшее расхождение в определении может привести к самым неожиданным выводам.

Второе положение, следующее из вышеупомянутой работы, связано с влиянием окислительно-восстановительных условий на продуктивность азотфиксации. При разных значениях rH продуктивность фиксации атмосферного азота оказалась различной. Наиболее продуктивно шел этот процесс в интервале rH = 22—24 (Eh соответственно + 200, + + 300 мв). Этот факт можно считать установленным, и он представляет значительный научный интерес, так как позволяет лучше ориентироваться в условиях, благоприятствующих фиксации. В связи с этим следует, однако, указать, что в нашей работе [7] на основе рассмотрения физиологического хода процесса и участвующих в нем ферментных систем отмечалось (цитирую дословно), что:

1) «в первой фазе процесса фиксации окислительный потенциал лежит, видимо, около + 100 мв + 200 мв» — (стр. 505), и

2) «в первой фазе процесса в качестве коллоидного носителя, вероятно, участвует белок с высоким окислительным потенциалом (не ниже + 200 мв + 300 мв)» (стр. 503).

Приведенные данные Работновой с сотрудниками показывают, что наш прогноз был совершенно точен, хотя мы и не производили непосредственных измерений окислительно-восстановительного потенциала.

Выводы

1. В фиксации молекулярного азота азотобактером участвуют свободные карбонильные группы, образующиеся за счет дегидрирования спиртовых групп катализатора азотфиксации, расположенных углеродных атомов, связанных между собой двойной связью.

2. При образовании двух рядом расположенных карбонильных групп двойная связь между атомами углерода заменяется одинарной.

3. При присоединении молекулярного азота по месту карбонильных групп происходит обратный процесс образования двойной связи между атомами углерода.

4. Различные окислители, способствующие образованию карбонильных групп, благоприятствуют азотфиксации, а различные восстановители, мешающие их образованию, тормозят азотфиксацию (гидрохинон, сероводород и т. д.).

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева

Получено 17. II. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Работнова И., Кондратьева Е., Нетте И. и Аронес С. Фиксация азота атмосферы азотобактером при различных условиях аэрации. Микробиология, XVIII, вып. 6, 1949.

2. Федоров М. Влияние на фиксацию азота атмосферы азотобактером веществ, реагирующих с карбонильной группой катализатора азотфиксации. ДАН СССР, L, вып. I, 1945.
3. Федоров М. Химизм фиксации азота атмосферы азотобактером. Микробиология, XV, вып. 6, 1946.
4. Федоров М. Биологическая фиксация азота атмосферы. Монография. Сельхозгиз, 1948.
5. Федоров М. Влияние на фиксацию азота атмосферы азотобактером аскорбиновой кислоты. ДАН, СССР, LXVI, 945, 1949.
6. Федоров М. Фиксация молекулярного азота азотобактером в присутствии поверхностно-активных и водоотнимающих веществ. Микробиология, XVIII, вып. 4, 1949.
7. Федоров М. Теория процесса фиксации молекулярного азота бактериями при участии специфического катализатора. Микробиология, XVIII, вып. 6, 1949.
8. Meyerhof H. und Burk D. Über die Fixation des Luftstickstoffs durch Azotobacter. Z. phys. Chem., **139**, 1928.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ AZOTOBACTER CHROOCOCCUM В ВОДОЕМАХ И ПОЧВАХ ДЕЛЬТЫ ВОЛГИ И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ КАК ФАКТОРА ПРОДУКТИВНОСТИ

К. В. Горбунов

В области изучения продуктивности почв в сельскохозяйственной практике биологическая фиксация атмосферного азота давно является предметом широких специальных исследований. Эти исследования в настоящее время привели к важным практическим результатам.

Применение разработанной системы бактериальных удобрений позволяет повышать урожайность сельскохозяйственных культур в среднем на 15—25% по сравнению с контролем (Красильников [16]).

Особенно большую роль приобретает изучение процессов биологической фиксации атмосферного азота для сельскохозяйственного производства теперь, когда вопрос о правильной обработке почвы и повсеместном введении травопольных севооборотов поднят на такую высоту.

Однако, наравне с большим вниманием к этому вопросу в агрономии, в другой области народного хозяйства — в рыбном хозяйстве — этот вопрос до сих пор затрагивается лишь в очень малой степени. При изучении биологической продуктивности водоемов, если и имелись попытки определить долю участия микроорганизмов, фиксирующих свободный азот, в продуктивности водоема, то они всегда сводились к проведению аналогии между ролью этих микроорганизмов в водоеме с их ролью в почве. Это мы видим, например, в работах Демолля. При этом упускается из виду тот факт, что эти местообитания (почва и водоем) имеют совершенно различную природу и дают человеку различные в качественном отношении полезные продукты.

С другой стороны, Demoll [28] безусловно прав, когда он делает общий вывод о том, что «пруд с созревшим илом, с наличием фосфора, со способной к брожению целлюлозой, с благоприятными физическими свойствами, т. е. со всеми условиями, благоприятствующими развитию азотоусвояющих бактерий, является не только в самой себе замкнутой, самой себя поддерживающей биологической системой благодаря самоснабжению азотом, но чем-то бо́льшим: это производитель азота, это фабрика, в которой больше экспорта, чем импорта».

Другие исследователи при изучении азотного баланса водоемов, совершенно не принимают во внимание деятельности азотфиксирующих микроорганизмов. Например, в работе Бруевича [4] по балансу биогенных элементов Каспийского моря азотфиксирующая деятельность микроорганизмов совершенно сбрасывается со счета.

Примерно в таком же положении находился у нас вопрос об оценке азотфиксирующей роли микроорганизмов в практике сельского хозяйства до известных исследований С. П. Костычева над бессменными культурами табака в Крыму. В результате этих работ Костычев пришел к заключению, что потери почвой азота могут компенсироваться деятельностью азотобактера без внесения удобрений. Эти исследования с полной обоснованностью в свое время выдвинули вопрос об использовании азотобактера в качестве бактериального удобрения [15].

Таким образом, изучение роли азотфиксирующих микроорганизмов в водоемах с точки зрения их биологической продуктивности отстало от положения этого же вопроса в сельском хозяйстве по меньшей мере на 20 лет. Однако еще задолго до открытия бактерий, способных фиксировать азот, азотный режим водоемов уже интересовал некоторых исследователей в связи с относительной бедностью азотом как морских, так и пресных вод. В то время данный вопрос стоял как вопрос об источнике азота для растительного населения водоемов. Но уже в 1888 г. обнаружилось явное отставание результатов его разработки по сравнению с тем, что было сделано в области агрохимии. К этому времени агрономы уже получили точный и положительный ответ на этот вопрос в результате опытов над бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями. В дальнейшем изучение участия азотфиксирующих бактерий в биодинамике почвы продвигалось вперед довольно быстрыми темпами. В 1893 г. Виноградским был выделен анаэробный вид, способный фиксировать свободный азот Clostridium Pasteurianum (Виноградский [7, 8]), а в 1901 г. Бейеринком аэробный — Azotobacter chroococcum (Beijerinck и van Delden [25]).

В это же время продолжалось изучение биологической фиксации свободного азота водорослями.

При этом все больше и больше накоплялось данных о том, что низшие водоросли, будучи выделены в чистую культуру, не способны фиксировать свободный азот. К такой точке зрения пришли многие авторы (Коссович [14], а позже Krüger и Schneidewind [30], Bouilhac [27]). Этот взгляд господствует и в настоящее время, несмотря на результаты, полученные еще Бейеринком и Гейнце по отношению к синезеленым водорослям Anabena catenula и Nostoc poludosum, у которых была обнаружена очень низкая активность в самостоятельной фиксации свободного азота. Более поздние работы также подтвердили эту особенность синезеленых водорослей (Федоров [24]).

Открытие и описание азотобактера в 1900—1901 гг. вызвало интерес к изучению распространения этого микроба в водоемах. Keutner [30] в 1904 г. указал на присутствие азотобактера в море (Кильская бухта). Он подверг исследованию донный ил и планктон и в обоих случаях получил положительный результат.

В 1904 г. Кейтнер обнаружил типичный азотобактер и в пресных водах. Он произвел сравнение азотфиксирующей активности водных и почвенных штаммов. Оказалось, что никакой разницы в азотфиксирующей активности у водных и почвенных штаммов нет. Кейтнер (1904) обнаружил также азотобактер в Северном море, в Индийском океане у берегов Малайского архипелага, около африканских берегов Средиземного моря и в Балтийском море. Keding [29] подтвердил широкое распространение азотобактера в морях.

Бенеке в 1907 г. обнаруживает азотобактер в илах Неаполитанского залива на глубине от 20 до 100 м [26].

Изучение распространения азотобактера в водоемах Советского Союза открывается исследованиями Исаченко, который в 1914 г. обнаружил азотобактер в грунтах Баренцова моря, что было подтверждено в 1932 г. Буткевичем (Исаченко [11, 12], Буткевич [5]). Малиянц и Ланге-Поздеева [18] нашли азотобактер в образцах грунта из южной части Каспийского моря. Ряд других авторов произвели исследование распространения азотобактера в пресных водоемах озерного типа. Так, Омелянский [20] обследовал в отношении азотобактера илы озер Белого и Коломно Вышневолоцкого района Калининской области, причем в обоих случаях результат оказался отрицательным. Салимовская-Родина [22] обнаружила азотобактер в грунтах Онежского озера, однако в воде азотобактер отсутствовал. Кузнецов в 1934 г. выделил азотобактер из грунтов озер Белого и Глубокого Московской области [17]. Нечаева и Салимовская-Родина (1935) обнаружили азотобактер в илу озера Байкал [19].

Распространение азотобактера в аллювиальных отложениях и в воде рек изучалось Сушкиной [23], которая пришла к заключению, что азотобактер в воде рек встречается лишь постольку, поскольку в воде взвешена илистая муть, с которой связан азотобактер. В результате исследования аллювиальных наносов речных долин рек Волхова и Волги, в верхнем ее течении, Сушкина обнаружила, что в то время как взвешенная в воде муть и отложенный молодой аллювий очень богаты азотобактером, в почвах луговых аллювиального происхождения, подвергающихся подзолообразовательному процессу, азотобактер постепенно вымирает.

В отложениях аллювия на Нижней Волге во влажных плиточных шоколадных глинах Сушкина нашла азотобактер на глубине 1—2 м. Исследованиями Сушкиной было установлено, что такие почвы, как подзол, краснозем, каштановые почвы и некоторые другие резко угнетают развитие азотобактера. После искусственного внесения он погибает в них уже в первые 10—12 дней. В целинных черноземах азотобактер не встречается, а в культурных встречается в зависимости от их водного режима.

Красильников [16] указывает, что после многократного орошения каштановых почв Заволжья в этих почвах появляется азотобактер. Такое же указание имеется у Федорова по отношению к пустынным почвам [24].

Таким образом, в результате рассмотрения материалов о распространении азотобактера в почвах и водоемах (имея в виду его распространение в реках и в аллювиальных почвах речных долин) создается впечатление, что водная среда для азотобактера, повидимому, является исключительно благоприятной. Именно в этих условиях, очевидно, должны проявляться наиболее полно свойственные азотобактеру особенные качества его физиологии, обусловливающие процесс фиксации свободного азота, процесс, имеющий столь выдающееся значение в азотном балансе в природе.

Судьба азотобактера в связи с эволюцией водоемов и почв дельты Волги

Своеобразное естественно-географическое положение дельты Волги и условия, в которых протекает эволюция ее водоемов и почв, позволяют проследить судьбу азотобактера в связи с этой эволюцией.

Одновременно выявляется разница в путях, по которым формируется биологическая продуктивность водоемов и почв, а также становится более ясным участие азотобактера в ходе этих процессов. Для выяснения этих вопросов мной было проделано соответствующее исследование на базе Астраханского государственного заповедника, результаты которого излагаются ниже.

Первой задачей работы было проведение обследования распространения азотобактера в почвах и водоемах дельты.

Выбирая места взятия проб для обследования на содержание в них азотобактера, я руководствовался прежде всего общим направлением почвообразовательного процесса в дельте Волги, а также закономерностями геоморфологических и гидрологических процессов, приводящих в данный период к продвижению края дельты и увеличению площади дельты с выходом на поверхность из-под воды все новых и новых площадей суши в виде островов и кос. При этом часть проб была взята на стадии до выхода грунтов из-под воды, т е. в авандельте и в водоемах нижней зоны дельты Волги (площадь АГЗ), а другая часть — на буграх Бэра, представляющих собой древние остатки додельтового рельефа, вышедшие из-под воды много тысячелетий назад. Кроме того, пробы отбирались на подвергшемся окультивированию путем обвалования и использования под сельскохозяйственные культуры участке аккумулятивно-дерновой почвы близ Астрахани (Сельскохозяйственная опытная станция).

Генезис водоемов и почв в дельте Волги может быть охарактеризован вкратце следующим образом.

Открытые водные пространства авандельты в результате сочетания аллювиального процесса с явлениями размыва и переноса ранее отложенных грунтов, а также падения уровня Каспия, постепенно расчленяются системой повышающихся элементов рельефа за счет отложений аллювия. Последние превращаются позднее в острова и косы. Между ними возникают своеобразные водоемы-култуки, открытые в сторону моря, подобные заливам.

Дальнейший процесс продвижения побережья в сторону моря и аккумуляция нового аллювия приводят к превращению открытых култуков в замкнутые водоемы озерного типа — ильмени. Мелководность является характерной особенностью этих водоемов, отличающей их от озер.

С другой стороны, повышенные элементы рельефа в виде островов, также подвергающихся ежегодному затоплению весенне-летними паводками, из года в год аккумулируют новые слои аллювия и в результате постепенно выходят из-под влияния паводка, так как период затопления на повышающихся в вертикальном направлении островах имеет тенденцию к сокращению. Все большее значение в процессах почвообразования приобретают чисто наземные факторы, а также грунтовые воды, обязанные своим происхождением паводкам.

Таким образом, влияние паводков становится лишь косвенным. Все большее самостоятельное значение приобретает элювиальный процесс. Этот последний в чистом виде без всякой зависимости от влияния гидроморфных факторов, в настоящее время господствует на буграх Бэра — древних остатках додельтового рельефа, которые, повидимому, прошли все последовательные стадии почвообразования и сравнительно давно вышли из-под влияния гидроморфных факторов и, в частности, уровня грунтовых вод.

Одной из характернейших особенностей почвообразовательного процесса в дельте Волги является тенденция к соленакоплению в почве. Поэтому почвы, выходящие из-под влияния паводков, склонны к засолению солончакового, а так же солонцового типа (Ковда [13], Плюснин [21]). Борьба с этим явлением с целью освоения земель под сельскохозяйственные культуры составляет самостоятельную, весьма сложную проблему.

Для изучения распространения азотобактера в водоемах и почвах, находящихся на разных последовательных этапах их генезиса, я считал целесообразным прежде всего выяснить, каково содержание азотобактера во взвешенной в воде мути из илистых частиц в период паводка, так как эта муть является основным материалом почвообразования в дельте. Именно благодаря деятельности реки в период паводков возни-

кают аллювиальные отложения, приводящие к расчленению открытого водного пространства авандельты и к возникновению суши.

Проведены также анализы грунта открытого водного пространства авандельты в районе Дамчикского участка Астраханского государственного заповедника. Дно авандельты покрыто преимущественно отложениями алеврита. В этом же районе были сделаны анализы грунта и обрастаний на водных растениях в Сазаньем култуке, ильмене Гранушном и на полое у кордона № 3. Всего подвергнуто анализу 34 пробы из водоемов и почв, находящихся на ранних стадиях почвообразовательного процесса в нижней зоне дельты Волги. Кроме того, была проанализирована 31 проба почв, взятых на более поздних стадиях почвообразования. К ним относятся пробы аккумулятивно-дерновой почвы обвалованного восемь лет назад участка на Астраханской сельскохозяйственной опытной станции, на котором развернут 10-польный севооборот, и пробы почв четырех бугров Бэра в разных частях дельты. Почвы последних имеют наибольший абсолютный возраст.

Для выделения азотобактера из естественной среды обитания в качестве основной питательной среды была принята среда Эшби с 3% агара, с заменой маннита декстрином. Предварительный опыт показал, что в результате высева на эту среду получается сходный результат с высевом на кремнекислый гель, пропитанный средой Эшби. В данном случае я учитывал также опыт Вернера [6], поступавшего аналогичным образом при исследовании почв Барабы в Западной Сибири. Почвы и грунты, а также части растений перед посевом обычно подсушивались на воздухе до воздушно-сухого состояния и лишь после этого подвергались анализу.

Анализ проводился методом почвенных комочков по Виноградскому путем распределения на поверхности застывшего агара Эшби ста почвенных комочков из предварительно увлажненной почвы, размешанной со стерильной водой в трех стерильных чашках Петри. Кусочки высушенных растений также раскладывались по поверхности агара. Через 5 дней после выдерживания при 25—30° производился подсчет комочков, давших рост азотобактера, и результат выражался в процентах ко всему количеству посеянных комочков. После появления первичного роста производилась очистка культур от сопутствующей микрофлоры методом рассева и последовательных перевивок. Часть очищенных таким образом культур была впоследствии подвергнута испытанию на их способность фиксировать свободный азот атмосферы.

Взвешенный в речной воде ил собирался в стерильную чашку Петри, укрепленную на столбе пристани Дамчикского участка заповедника. За несколько часов на дне чашки накапливался слой ила до 3 мм.

Подводные грунты забирались дночерпателем Ивлева или стратометрической трубкой Перфильева.

В табл. 1 приводятся полученные результаты по содержанию азотобактера в речном иле, в грунтах водоемов, находящихся на различных стадиях их генезиса, в обрастаниях на водных растениях и в почвах дельты различного абсолютного возраста.

Все отрицательные случаи были проверены методом накопительной почвенной культуры с последующим высевом на среду Эшби. Только в одном случае, который относится к бурой почве Верхне-лебяжьего бугра Бэра, покрытого эоловыми наносами песка, после накопления был выделен азотобактер из 6% почвенных комочков. Возможно, что в этом случае азотобактер был случайно занесен ветром с песком из прибрежных аллювиальных отложений.

Из приведенных данных видно, что в почвах лишь на аллювиальной и аккумулятивно-дерновой стадиях почвообразования азотобактер находит для себя благоприятные условия существования; по мере старения почв в результате все большего преобладания наземных почвообразую-

Таблица 1

Данные количественного учета азотобактера в водоемах и почвах дельты Волги, находящихся на разных стадиях генезиса

Дата отбора проб	Место взятия проб	Объект исследования	Тип почвообразования (или стадия)	Глубина взятия проб грунта или почвы в см	Механический состав	Растительность	% нахождения азотобактера
29.VI. 1948 г.	р. Быстрая против кордона № 3	Взвешенный ил, собранный стерильно	—	—	Ил	На дне отсутствует, по берегам тростниковая крепь	87
	То же	То же	—	—	„	То же	100
	„ „	„ „	—	—	„	„ „	100
	„ „	„ „	—	—	„	„ „	100
26.VI	р. Быстрая против кордона № 3, 11 м от левого берега	Подводный грунт	Аллювиальный	5	Песок	Отсутствует	100
	То же	То же	То же	15	„	„	100
3.VII	Авандельта в районе оз. Зюдева	„ „	„ „	5	„	Vallisneria spiralis L.	100
	То же	„ „	„ „	15	„		100
	„ „	„ „	„ „	5	„	Potamogeton perfoliatus L.	100
	„ „	„ „	„ „	15	Песчанистый ил	То же	100
	Авандельта в непосредственной близости к оз. Зюдеву	„ „	„ „	5	Илистый песок	Limnanthemum nymphoides Link.	43
	То же	„ „	„ „	15	Песок	То же	50
	Сазаний култук (середина банчины)	„ „	„ „	5	Илистый песок	Отсутствует	100
4.VI	Сазаний култук (мелководье)	„ „	„ „	15	Песок	Limnanthemum nymphoides Link.	100
	То же	„ „	„ „	15	„	То же	100
	Сазаний култук (прибрежная зона Бабинской косы)	„ „	„ „	5	„	„ „	100
	То же	„ „	„ „	15	„	„ „	100
	Сазаний култук	„ „	„ „	5	„	Sparganium polyedrum Asch. et. Gr.	100
	То же	„ „	„ „	15	„	То же	100
	„ „	Листья, стебли	„ „	15	„	Limnanthemum nymphoides Link.	100
29.VI	Ильмень Гранушный, горло	Подводный грунт	„ „	5	Ил с большим колич. корней	Raripa amphibia (R. Rr) Bess.	23
	То же	То же	„ „	15	Песок с ракушей	То же	100
	Ильмень Гранушный, центр	„ „	„ „	5	Илистый песок	Отсутствует	44
	То же	„ „	„ „	15	Песок	„	100

Таблица 1 (продолжение)

Дата отбора проб	Место взятия проб	Объект исследования	Тип почвообразования (или стадия)	Глубина взятия проб грунта или почвы в см	Механический состав	Растительность	% нахождения азотобактера
	Ильмень Гранушный	Обрастания на листьях и стеблях	—	—	—	Limnanthemum nymphoides Link.	23
	То же	Ризосфера	—	—	—	Raripa amphibia (R. Rr) Bess.	74
	„ „	Стебли и листья, затопленные водой	—	—	—	То же	0
	„ „	Ризосфера	—	—	—	Digraphis arundinacea Trin.	100
	„ „	Стебли	—	—	—		25
	„ „	„	—	—	—	Phragmites communis L.	100
10.V. 1941 г.	Тростниковая заросль против кордона № 3, на правой стороне реки	Болотно-ильменная почва	Аллювиальный	5	Илистый песок	То же	100
	То же	То же	То же	15	То же	„ „	100
	Луговая зона выше грани Дамчикского участка АГЗ	Почва	Луговой аллювиальный с задернением	5	Суглинок	Лисохвост	100
	То же	„	То же	15	„	„	100
27.IV. 1947 г.	Областная с.-х. опытная станция, обвалованный 8 лет назад участок, поливной	„	Аккумулятивно-дерновый	5	„	1-е поле севооборота, обработанное под томаты	70
24.VII	То же	„	То же	5	„	То же	73
27.IV	„ „	„	„ „	5	„	2-е поле севооборота, подготовленное под свеклу	73
24.VII	„ „	„	„ „	5	„	2-е поле севооборота, свекла в период полной вегетации	34
27.IV	„ „	„	„ „	5	„	3-е поле севооборота, подготовленное под горчицу	47
24.VII	„ „	„	„ „	5	„	3-е поле севооборота, горчица в стадии полного созревания	9
27.IV	„ „	„	„ „	5	„	4-е поле севооборота, подготовленное под картофель	90

Таблица 1 (продолжение)

Дата отбора проб	Место взятия проб	Объект исследования	Тип почвообразования (или стадия)	Глубина взятия проб грунта или почвы в см	Механический состав	Растительность	% нахождения азотобактера
24.VII	Областная с-х. опытная станция, обвалованный 8 лет назад участок, поливной	Почва	Аккумулятивно-дерновый	5	Суглинок	4-е поле севооборота в состоянии полной вегетации	95
27.IV	„ „	„	То же	5	„	5-е поле, посеян ячмень	5
24.VII	„ „	„	„ „	5	„	5-е поле, ячмень в стадии полного созревания	87
27.IV	„ „	„	„ „	5	„	6-е поле, люцерна	59
24.VII	„ „	„	„ „	5	„	6-е поле, люцерна в полной вегетации	97
27.IV	„ „	„	„ „	5	„	7-е поле, люцерна	53
24.VII	„ „	„	„ „	5	„	7-е поле, люцерна в состоянии полной вегетации	100
27.IV	„ „	„	„ „	5	„	8-е поле, люцерна	79
27.VII	„ „	„	„ „	5	„	8-е поле, люцерна в состоянии полной вегетации	100
27.IV	„ „	„	„ „	5	„	9-е поле, подготовленное под капусту	74
24.VII	„ „	„	„ „	5	„	9-е поле, капуста в период полной вегетации	92
27.IV	„ „	„	„ „	5	„	Пар	20
24.VII	„ „	„	„ „	5	„	„	100
24.VI. 1948 г.	Бугор Бэра близ села Семиковка	Бурая почва, слабосолончаковатая	Степной, элювиальный	5	Легкий суглинок	Salicornia herbacea L. Agropirum prostatum L. Artemisia sp.	0
	То же	То же	То же	15	То же	Alhagi pseudalchagi Ceratocarpus arenarius L.	0
	„ „	„ „	„ „	5	„ „	То же	0
	„ „	„ „	„ „	15	„ „	„ „	0
	„ „	„ „	„ „	5	„ „	„ „	0
	„ „	„ „	„ „	15	„ „	„ „	0
	„ „	„ „	„ „	5	„ „	„ „	0

Таблица 1 (продолжение)

Дата отбора проб	Место взятия проб	Объект исследования	Тип почвообразования (или стадия)	Глубина взятия проб грунта или почвы в см	Механический состав	Растительность	% нахождения азотобактера
24.VI 1948 г.	Бугор Бэра близ с. Семиковка	Бурая почва, слабосолончаковатая	Степной, элювиальный	15	Легкий суглинок	Salicornia herbacea L. Agropirum prostatum P. B. Artemisia sp., Alhagi pseudalchagi	0
	То же	То же	То же	5	То же	Ceratocarpus arenarius L.	0
	„ „	„ „	„ „	15	„ „	То же	0
9.VIII	Бугор Бэра близ села Верхне-Лебяжьего	Бурая почва, сверху занесенная эоловым песком	„ „	5	Песок	Alhagi pseudalchagi	0
9.VIII	Бугор Бэра, с. Марфино	Бурая почва	„ „	5	Глина	То же	0

щих факторов над гидроморфными, условия жизни азотобактера явно ухудшаются; когда воздействие гидроморфных факторов прекращается полностью и остается лишь чисто элювиальный процесс, азотобактер отмирает.

Деятельность человека накладывает резкий отпечаток на общий ход почвообразовательного процесса в дельте. Известно, что при нерациональном использовании вышедших из-под воды земельных массивов срок жизни почвы намного сокращается, так как неизбежно наступает засоление и превращение обвалованных участков в солончаки (Ковда [13]).

В результате обследования на присутствие азотобактера в почве полей 10-польного севооборота Астраханской сельскохозяйственной опытной станции весной до начала вегетации культурных растений (27.IV. 1947 г.) и в период их полной вегетации, а для некоторых культур даже созревания (24.VII.1947 г.), выявляется различное отношение азотобактера к разным культурам.

Особенно благоприятное влияние на развитие и активизацию азотобактера в течение вегетационного периода оказывают люцерна и ячмень; наоборот, свекла и горчица ограничивают его развитие, а обильно поливаемые в течение вегетационного сезона томаты, картофель и капуста поддерживают его концентрацию в почве. Культурный пар, видимо, также оказывает благоприятное воздействие на развитие азотобактера и способствует его сохранению в почве.

Эти данные лишний раз свидетельствуют об огромном значении травопольной системы земледелия в условиях дельты Волги. Очевидно, что лишь применение травопольной системы обеспечивает сохранение способности местных почв и на поздних стадиях их генезиса к пополнению запасов азота за счет деятельности азотобактера.

Обращает на себя внимание тот факт, что в условиях дельты Волги азотобактер наиболее обильно представлен именно в водоемах дельты или в почвах, которые еще находятся под действием гидроморфных факторов. Поэтому можно думать, что наиболее естественными и благо-

приятными местообитаниями для азотобактера являются именно водоемы дельты — их грунты и заросли водных растений.

Для выявления способности штаммов азотобактера, выделенных из водоемов дельты Волги, к фиксации свободного азота применена методика в модификации Федорова [24] [1].

В результате было определено, что на каждый грамм потребленного сахара культуры азотобактера, выделенные из водоемов дельты Волги, фиксируют количество свободного азота, приведенное в табл. 2.

Таблица 2

Величина фиксации свободного азота водными штаммами азотобактера из водоемов дельты Волги

№ штамма	Наименование водоемов, из которых выделены штаммы	На 1 г потребленного сахара фиксировано азота в мг
32	Авандельта	8,75
28	„	5,90
16	Сазаний культук	8,12
3	Ильмень Гранушный	8,75
	Среднее . . .	7,42

Сопоставляя эти величины с приводимой Федоровым величиной фиксации для наземных штаммов, можно видеть, что активность фиксации в обоих случаях выражается очень близкими цифрами. Так, для наземных штаммов Azotobacter chroococcum азотфиксирующая активность равна 5—7 мг, тогда как в нашем случае она колеблется между 5,9—8,7 мг на каждый грамм потребленного сахара. Поэтому можно полагать, что при широком распространении Azotobacter chroococcum в водоемах недоучитывать его азотфиксирующую деятельность при балансовых расчетах нет никаких оснований. Это положение становится несомненным, если учесть, что азотобактер водоемов вступает в определенные биоценотические отношения как с растительным, так и с животным населением водоемов. Последнее подтверждается некоторыми, ниже изложенными опытами.

Азотобактер и водная растительность

Коссович [14] высказал предположение о существовании симбиотических отношений между водорослями и бактериями. Многие авторы поддержали это мнение применительно к азотобактеру. Впоследствии было доказано (Алеев [1, 2], Алеев и Мудрецова [3]), что многие водоросли выделяют органическое вещество в окружающую среду. Таким образом, симбиотические отношения между водорослями и азотобактером как бы получили свое физиологическое объяснение. Рядом исследований о взаимоотношениях азотобактера с высшими культурными растениями этот вопрос также решен в общем в положительном смысле (Федоров [24]). Между тем характер отношений азотобактера с водной растительностью до сих пор остается неисследованным. Приходится предполагать, что биологическая продуктивность водоемов не может не зависеть от того, как складываются эти взаимоотношения, так как очень часто недостаток доступного растениям азота в водоемах лимитирует развитие

[1] Эта часть работы проведена на кафедре физиологии растений и микробиологии Тимирязевской сельскохозяйственной академии.

жизни и тем самым определяет биологическую продуктивность водоемов. Особенно мощное влияние на жизнь в водоеме должно оказывать присутствие азотобактера в тех случаях, когда обильное развитие высшей водной растительности сопровождается высокой концентрацией азотобактера, что как раз и имеет место во всех водоемах дельты Волги. Поэтому представлялось интересным проверить этот вопрос экспериментальным путем. В качестве опытного растения была избрана ряска (Lemna minor L.), так как по своей величине она удобнее для прижизненной стерилизации.

Для этого собранная в естественном водоеме (Сазаньем култуке) ряска стерилизовалась методом Гаевской [9] в растворе риванола в течение суток (исходный раствор риванола 0,1%. Из него бралось 0,4 мл на 200 мл стерильной воды. По прошествии суток проводилась промывка стерильной водой, после чего ряска снова выдерживалась в растворе риванола — 0,8 мл исходного раствора на 200 мл воды — в течение 4 часов, а далее следовала окончательная промывка стерильной водой). В результате, по окончании стерилизации ряска, хотя и теряла свои корни, но оставалась жизнеспособной; впоследствии корни регенерировали. Несмотря на то, что стерилизация оказалась неполной, азотобактер был, однако, исключен и при проверке высевом на элективную среду не обнаруживался. С освобожденной от азотобактера ряской и был поставлен опыт.

В качестве основной питательной среды взята стерильная среда Кнопа в варианте Шрайберга, в которой азот был исключен путем замещения $Ca(NO_3)_2$ на $CaCl_2$ и KNO_3 на KCl. Контролем служила неизмененная среда (полная).

Опыт поставлен в двух повторностях в плоскодонных колбах.

В колбы опытного варианта вводилось 100 млн. клеток азотобактера. По истечении 40 дней учитывалась степень размножения ряски в различных вариантах опыта (табл. 3).

Таблица 3

Влияние азотобактера на размножение ряски (Lemna minor L.)

№ колбы	Вариант опыта	Количество экземпляров ряски в день постановки опыта 9.VIII	Количество экземпляров ряски в конце опыта 20.IX	Среднее из двух опытов	Степень размножения
1	Полная среда	20	153	164	8,20
2		20	169		
3	Без азота	20	58	69	3,45
4		20	81		
5	Без азота + 100 млн. клеток азотобактера	20	97	104	5,20
6		20	111		

Таблица показывает, что присутствие азотобактера оказало несомненное ускоряющее влияние на размножение ряски. Следует, однако, отметить, что в обоих случаях при полном отсутствии минерального азота ряска имела более бледную окраску, а также ненормально длинные кор-

ни по сравнению с экземплярами, развивавшимися в полной среде. Это указывает на явную недостаточность азотистого питания. Однако в условиях любого водоема дельты Волги всегда присутствуют хотя бы минимальные количества азота. Кроме того, присутствие органических веществ в воде и в осаждающемся на растениях детрите может обеспечить более активную деятельность азотобактера, как то имело место в опытах Федорова [24] с монобактериальными культурами с добавлением органического вещества.

Поэтому мы вправе заключить, что взаимодействие азотобактера в водоеме с высшими водными растениями должно приводить к тем же результатам, которые наблюдаются в почве, т. е. к связыванию свободного азота, и благоприятствовать росту высших растений. Таким путем азотобактер, очевидно, и оказывает действие на биологическую продуктивность водоемов через растительность.

Азотобактер и жизнь животного населения водоема

Общеизвестно положение, что распределение различных групп микроорганизмов по различным стациям водоема не является беспорядочным, а зависит от наличия в окружающей среде данной стации благоприятных экологических факторов и в первую очередь того или иного питательного материала. Это в конечном счете обусловливает развитие определенных физиологических групп микроорганизмов. Одновременно те же факторы обусловливают развитие свойственных данному местообитанию форм животных.

В настоящее время можно считать доказанным, что бактериальное питание ряда водных животных является обычным звеном в пищевых цепях водоема. Так, в водной массе растворенное органическое вещество, содержащее органический азот, обусловливает развитие планктонных форм бактерий-аммонификаторов, последние, наряду с планктонными водорослями, составляют пищевую основу для представителей зоопланктона (Гаевская [9], Салимовская-Родина [22]).

На отмерших растительных остатках, скапливающихся на дне водоема, формируются целлюлозные бактериальные биоценозы, которые и становятся пищей отдельных представителей бентоса (Горбунов [10]).

В связи с широким распространением в водоемах дельты Волги азотобактера и особой роли этого микроорганизма как вида, способного обогащать среду обитания азотом, нам казалось весьма интересным определить его значение в питании водных животных, взятых из различных стаций водоема.

Для решения этого вопроса совершенно неприменим способ анализа питания того или иного вида животных обычным методом изучения содержимого пищеварительного тракта, так как бактерии не поддаются дифференциации друг от друга в пищевой массе из кишечника животных.

Поэтому мы попытались применить методику Гаевской [9], позволяющую по косвенному признаку — наличию избирательного рефлекса у водных животных на предложенную им пищу — судить об избирательности питания у некоторых форм животных.

В нашем опыте были испытаны бактерии трех эколого-физиологических групп: 1) целлюлозные бактерии, 2) азотобактер, 3) гнилостные бактерии.

Все эти бактерии культивировались в лаборатории на соответствующих питательных средах: целлюлозные бактерии — на чистой клетчатке, пропитанной минеральной средой Гетчинсона; азотобактер на кремнекислых пластинках, пропитанных средой Омелянского и Северовой с декстрином, а гнилостные — на мясо-пептонном агаре.

Из животных испытаны: личинки хирономид (род Tanypus) и водяные ослики (Asellus aquaticus), добытые в полое[2] р. Быстрой, олигохеты из рода Limnodrillus из зарослей нимфейника, сальвинии из ряски в мелком протоке и Daphnia pulex из воды полоя р. Быстрой у кордона № 3 Дамчикского участка Астраханского государственного заповедника (табл. 4).

Таблица 4

Избирательность питания бактериями у некоторых водных животных

Название животных	Местообитание животных	Распределение животных по „дворикам"* через 1 сутки (в %)		
		с культурой целлюлозных бактерий	с культурой азотобактера	с культурой гнилостных бактерий из воды полоя
Tanypus	Грунт со дна полоя р. Быстрой	39	61	0
Asellus aquaticus	То же	10	90	0
Limnodrillus	Грунт со дна р. Быстрой	75	12,5	12,5
Stylaria	Заросли макрофитов . .	0	100	0
Daphnia pulex	Вода из полоя р. Быстрой	19	44	37

* „Дворики" — отделения круглого аквариума, сообщающиеся в центре между собой. Центральное пространство свободно от пищи, в отделениях же — испытуемая пища.

Как видно из таблицы, азотобактер наиболее охотно использовался для питания зарослевыми формами Stylaria, живущими за счет обрастаний; представители бентоса полоя р. Быстрой — Asellus aquaticus — привлекались также целлюлозными бактериями; олигохеты Limnodrillus со дна р. Быстрой оказали явное предпочтение целлюлозным бактериям; планктонная же форма — Daphnia pulex — из воды полоя р. Быстрой показала избирательную способность в отношении азотобактера и планктонных представителей гнилостных бактерий. Такая более широкая избирательная способность в отношении вида пищи у полойных представителей обусловливается, повидимому, пространственным совмещением различных форм пищи в естественных условиях полоя вследствие его мелководности и обильной растительности и вырабатывает у животных полифагию.

В заключение считаю своим приятным долгом выразить благодарность проф. М. В. Федорову за ряд ценных советов, данных в процессе выполнения работы.

Выводы

1. В водоемах дельты Волги — в речном взвешенном в воде иле, в грунтах авандельты, култуков и ильмене, на поверхности подводной растительности и ее ризосфере — азотобактер обильно распространен.

2. В аллювиальных почвах, вышедших из-под воды, но подвергающихся ежегодному затоплению, азотобактер также является постоянным компонентом почвенного биоценоза.

[2] Полой — временно образующийся водоем с наземной растительностью за счет разлива реки в паводок. Часто является местом икрометания рыб.

3. С возрастом почв, на более поздних стадиях их развития, когда начинают преобладать чисто наземные факторы почвообразования над гидроморфными, условия существования азотобактера ухудшаются и количество его в почве снижается.

4. На стадии, когда действие гидроморфных факторов почвообразования прекращается и усиливается действие наземных факторов, из которых основным является элювиальный процесс, например, в древних почвах бугров Бэра, азотобактер практически исчезает.

5. Основным действенным средством сохранения азотобактера в почве, если рассматривать его как один из факторов плодородия в почвах дельты Волги, является введение травопольной системы земледелия с полями многолетних трав, в сочетании с искусственным орошением речной водой, обогащенной в период паводка илистыми частицами, с которыми связан азотобактер.

6. На основании опыта с водным растением — ряской Lemna minor L.— можно предполагать наличие симбиотических отношений между азотобактером и высшими водными растениями.

Азотобактер оказывает благоприятное влияние на водные растения, ускоряя их рост.

7. Азотобактер в водоемах дельты Волги, входя в биоценоз перифитона и бентоса, является для некоторых водных животных из этих же биоценозов предпочтительной пищевой группой.

8. Роль азотобактера в азотном балансе водоемов дельты Волги осуществляется по двум направлениям: 1) через влияние на водную растительность; 2) через непосредственное накопление пригодного в пищу некоторым представителям водной фауны органического вещества в виде бактериальной массы тел самого азотобактера. Этим отличается его роль в водоемах от таковой в условиях почвы, где второй путь практического значения не имеет.

Астраханский государственный заповедник

Получено 13. I. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алеев Б. С. Выделение водорослями органических веществ в окружающую среду. Микробиология, III, 4, 1934.
2. Алеев Б. С. К вопросу о механизме выделения водорослями органических веществ. Биохимия, I, 1936.
3. Алеев Б. С. и Мудрецова К. А. Роль фитопланктона в динамике азота. Микробиология, VI, вып. 3, 1937.
4. Бруевич С. В. О балансе биогенных элементов в Каспийском море. Тр. по комплексному изучению моря, АН СССР, Отделение геолого-географич. наук, XIV, 1941.
5. Буткевич В. С. О бактериальном населении Каспийского и Азовского морей. Микробиология, II, 9—10, 1938.
6. Вернер А. Р. О солестойкости азотобактера. ДАН СССР, XLVII, 4, 1945.
7. Виноградский С. И. Об усвоении свободного азота атмосферы микробами. Арх. биол. наук, 3, 1895.
8. Виноградский С. И. (Winogradsky S.). Clostridium Pasteurianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften, als Buttersäureferment. Ctbl. Bakt. II Abt., 9, 1902.
9. Гаевская Н. С. О некоторых методах в изучении питания водных организмов. Методы получения бактериологически чистых Cladocera, Ostracoda, Copepoda, Rotatoria. Зоологический журнал, XVII, 6, 1938.
10. Горбунов К. В. Целлюлозные бактерии как звено в пищевой цепи пресных водоемов. Микробиология, XV, вып. 2, 1946.
11. Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Сев. Ледовитого океана. Тр. Мурманской научно-промысловой экспедиции. Петроград, 1906.
12. Исаченко Б. Л. Микробиологическая характеристика грунтов и воды Карского моря. Тр. Арктического ин-та, 82, 1937.
13. Ковда В. А. Происхождение и режим засоленных почв, т. II, 1947, Москва — Ленинград.

14. Коссович П. С. Исследование по вопросу, могут ли водоросли усвоять свободный азот. Тр. имп. СПб. об-ва естествоиспытателей, **26**, 1896.
15. Костычев С., Шелоумова А. и Шульгина О. Азотный режим почв южного берега Крыма, Тр. Гос. ин-та опытной агрономии, **4**, 1926.
16. Красильников Н. А. Микробиологическая основа бактериальных удобрений. Изд. АН СССР, Москва, 1945.
17. Кузнецов С. И. Сравнительное изучение азотного, фосфорного и кислородного режима Глубокого и Белого озер. Тр. Лимнологической станции в Косино. **17**, 1934.
18. Малиянц А. А. и Ланге-Поздеева И. П. Биохимические процессы, вызываемые бактериями на дне Каспийского моря. Известия Азербайджанского гос. ун-та, Отд. естеств. и медицины, **7**, 1928.
19. Нечаева Н. Б. и Салимовская-Родина А. Г. Микробиологический анализ донных отложений Байкала. Тр. Байкальской лимнологической станции, **6**, 1935.
20. Омелянский В. Л. Бактериологическое исследование ила озер Белое и Коломно. Микробиологический журнал, IV, вып. 3, 1917.
21. Плюснин И. И. Почвы Волго-Ахтубинской поймы. 1938. Сталингр. обл. книгоизд.
22. Салимовская-Родина А. Г. Онежское озеро. Микробиологическое исследование Онежского озера в 1930—1931 гг. Исследование озер СССР, вып. 1, Гидрометеорологический комитет Союза ССР, Гос. гидрол. ин-т, 1932.
23. Сушкина Н. И. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. Изд. АН СССР. Москва, 1949.
24. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Сельхозгиз, М., 1948.
25. Beijerinck M. W. u. van Delden A. Über die Assimilation des freien Stickstoffes durch Bakterien. Ctbl. Bakt., **9**, 1902.
26. Benecke W. Über stickstoffbindende Bakterien aus dem Golf von Neapel. Ber. Deutsch. Bot. Ges., **25**, 1907.
27. Bouilhac. Sur la culture du Nostoc punctiforme en présence du glucose. C. R. Paris, **125**, 1897.
28. Demoll R. Teichdüngung. Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas. IV, Stuttgart, 1925.
29. Keding M. Weitere Untersuchungen über stickstoffbindende Bakterien. Wiss. Meeresuntersuch. Abt. Kiel. Neue Folge, **9**, 1906.
30. Keutner J. Über das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. Wiss. Meeresuntersuch. Abt. Kiel, Neue Folge, **8**, 1904.
31. Krüger u. Schneidewind. Sind niedere chlorophyllgrün Algen imstande den freien Stickstoff der Atmosphäre zu assimilieren und den Boden an Stickstoff zu bereichern? Landw. Jahrb., **29**, 1900.

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОБРАЗОВАНИИ САПРОПЕЛЕВЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

С. И. Кузнецов

Генезис сапропелевых отложений представляет интерес, как один из процессов современного образования горючих ископаемых. Существуют гипотезы (Таусон [23]), приписывающие известную роль сапропелевым отложениям как материалу, из которого в дальнейшем могут образоваться горючие ископаемые типа сапропелитов, горючих сланцев и даже нефти.

С другой стороны, изучение современных процессов образования сапропелей может пролить свет на те условия, которые существовали в прежнее время и обусловили образование горючих ископаемых. Исаченко придавал большое значение подобным исследованиям, говоря: «Понять прошлое земли и уяснить различные этапы ее истории можно исходя из настоящего, сравнивая настоящее с прошлым, оставившим следы, позволяющие читать это прошлое».

Прежде чем перейти к основной теме сообщения, необходимо дать определение понятия «сапропель». В переводе на русский язык сапропель значит «гниющий ил», однако зачастую (Штурм [27]) термин «сапропелевые отложения» приписывается вообще всем озерным иловым отложениям с высоким содержанием органических веществ независимо от того, в водоемах какого типа и при каких условиях они откладывались.

Нам кажется, что этому понятию ближе всего соответствуют принятые в классификации Лундквиста (Lundquist [34]) типы озерных отложений, богатые органическими остатками желеобразной консистенции, образовавшиеся в озерах с богатой растительной жизнью. То, что Лундквист называет тонкодетритной, грубодетритной или водорослевой гиттией. Потеря от прокаливания в таких отложениях зачастую превосходит 50%.

В качестве элементов, из которых в дальнейшем образуется сапропель, мы принимаем: 1) планктон, 2) бентос, 3) остатки высшей водной растительности и 4) большее или меньшее количество органических веществ и зольных элементов, вносимых в водоем с поверхностными водами.

Распад сапропелеобразователей в водной массе

Распад планктона

Все компоненты иловых отложений, прежде чем опуститься на дно водоема, проходят через водную массу. При этом значительная часть легкоразрушаемых компонентов органического вещества илообразователей подвергается аэробному распаду (Кузнецов [13]).

Как видно из рис. 1, основная масса взвешенных веществ в поверхностной воде в момент цветения озера обычно состоит из планктонных организмов, незначительную часть составляет бесформенный органический детрит.

Сравнивая данные анализов взвешенных частиц с поверхности и с глубины 7 м, мы видим, что за время оседания частичек планктона до этой глубины они успевают разложиться более чем на 90%. Еще мень-

ше их доходит до глубины 12 м. За счет этого несколько возрастает количество бесформенного органического детрита.

Эти наблюдения хорошо совпадают с исследованиями Кастальской [3] по планктону Глубокого Озера, а также с данными Сперанской [19] по химическому составу планктона и поверхностных слоев сапропеля Белого Озера с глубины 12 м.

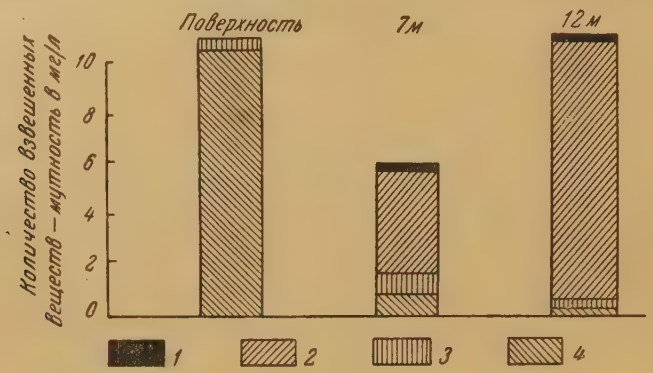


Рис. 1. Компонентный состав взвешенных веществ в воде озера Белого в зависимости от глубины погружения. Анализ 11. VIII. 1940 г.

1 — железобактерии; *2* — гидраты железа; *3* — органический детрит; *4* — планктон

Таблица 1

Состав органического вещества планктона и поверхностных слоев сапропеля в процентах на сухую навеску (по данным Сперанской)

Характер органического вещества	Зольность	Воска и битумы	Гемицеллюлоза	Клетчатка	Не гидролизуемый остаток	Общий азот
Планктон Белого озера	6,4	14,15	29,7	10,2	31,4	8,1
Поверхностый слой сапропеля Белого озера	46,4	6,5	7,1	6,1	30,1	2,5
Количество распавшегося органического вещества планктона в водной массе в % к исходному (за время погружения до дна водоема зольность принята неизменной)		93,8	96,7	91,6	86,8	95,7

Как видно из табл. 1, распад планктона при опускании его до глубины 12 м достигает более 90% от исходного, наиболее сильному разрушению подвергаются гемицеллюлозы. Наиболее устойчивыми оказываются вещества, входящие в группу лигнино-гумусового комплекса.

Процент распада органического вещества высчитан нами теоретически из того расчета, что минеральные компоненты планктона остались неизменными и зольность иловых отложений целиком из них и составляется.

Общее количество бактерий в водной массе озера, учитываемых микроскопическим методом, может в моменты сильного цветения водоема исчисляться несколькими миллионами на 1 мл воды. Зачастую максимальное их количество встречается в зоне температурного скачка, где резкое изменение плотности воды создает благоприятные условия для

задержки погружения вниз отмерших частичек планктонных организмов. Данные соответствующего анализа (Кузнецов [7]) воды Белого озера в Косине от 10.VIII.1932 приведены на рис. 2. Несмотря на то, что зона, лишенная кислорода, начинается с глубины 7 м, количество бактерий достигает 3—4 млн. в 1 мл воды. Самый процесс распада планктона начинается, повидимому, с автолиза отмерших клеток с выделением легкоусвояемых веществ в окружающую среду (Гаевская [1]), а последние уже в дальнейшем минерализуются бактериальным населением воды.

Распад высшей водной растительности

Для мелководных озер с значительной площадью, источником образования сапропеля не менее важным, чем планктон, является высшая водная растительность.

Процессы разложения макрофитов и участие их остатков в формировании озерных иловых отложений подробно изучалось Мессиневой и Горбуновой (15). Авторы показали, что процесс распада макрофитов начинается с момента их отмирания и сопровождается сильным увеличением на поверхности субстрата количества бактерий, способных сбраживать сахара, крахмал и клетчатку. Количество последних исчисляется сотнями миллионов на 1 г сухого растения.

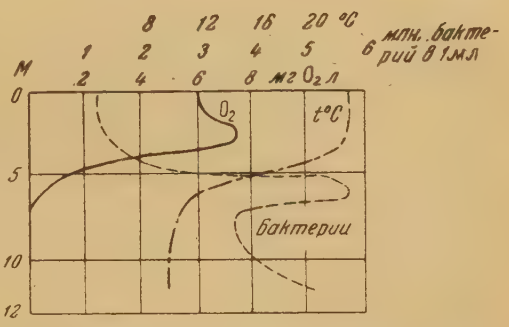


Рис. 2. Вертикальное распределение общего количества бактерий и кислорода в озере Белом в Косине

В результате распада материал обогащается лигнино-гумусовым остатком, а количество водо-растворимых веществ, гемицеллюлоз, пентозанов и клетчатки снижается.

К сожалению, авторы не приводят данных по определению зольности исходного и конечного материала, что не дает возможности учесть процент разложенного органического вещества.

На основании наблюдений и анализов Мессинева и Горбунова приходят к выводу, что разлагающиеся кувшинки обогащают воду растворимыми формами азота, солями, газами, а в иловые отложения попадают лигнин, клетчатка, гемицеллюлозы, битуминозные вещества и белки микрофлоры, участвующей в разрушении растительных остатков. Аналогичным же образом идет распад тростника и рдестов. Эти растения, в отличие от кувшинки, способствуют обогащению иловых отложений еще и битуминозными веществами.

Лабораторными исследованиями указанные авторы установили значение также ферментативных процессов при разложении растительных остатков.

Распад органического вещества в иловых отложениях

Занимаясь изучением образования сапропелей и их возможного перехода в горючие ископаемые мы использовали в качестве объектов исследования, с одной стороны, озера ледникового происхождения Московской и Калининской областей, а с другой — целый ряд озер северного Казахстана и Западной Сибири из районов, не подвергавшихся оледенению, где можно было ожидать наличия более древних озерных отложений.

Таблица 2

Компонентный анализ органического вещества сапропелей Черного озера в процентах на органическое вещество

Глубина от поверхности ила в м	Зольность в % от сухого веса	Спирто-бензольная вытяжка	Гемицеллюлозы	Клетчатка	Негидролизуемый остаток
0—0,15	49,3	7,4	14,5	7,7	62,0
1	49,1	5,8	8,9	5,6	62,0
2	47,3	5,4	7,5	4,4	66,8
3	48,5	4,6	7,0	4,4	68,7
5	46,6	4,9	6,3	6,6	70,6

Прежде чем переходить к описанию микробиологических процессов распада, приведем некоторые данные, характеризующие условия аэробности окружающей среды, где локализированы процессы распада (по данным химического анализа).

Как показали определения окислительно-восстановительного потенциала в иловых отложениях (Экзерцев [31], Кузнецов [12]), последний, начиная с поверхностного горизонта иловых отложений вплоть до 4—6 м от поверхности, колеблется около величины rH = 12—15. Это указывает, что восстановительные условия не так уж низки и приближаются к тем условиям, когда молекулярный кислород может присутствовать в минимальных количествах.

Компонентный состав органического вещества иловых отложений подробно исследовался по Белому и Черному озерам в Косине. Некоторые данные одного из анализов сведены нами в табл. 2.

Как видно из приводимой таблицы, наиболее энергичный распад веществ, переходящих в спирто-бензольную вытяжку, гемицеллюлоз и клетчатки происходит в самых поверхностных слоях ила. Начиная с глубины 1 м, состав органического вещества остается весьма стабильным.

Микробиологические исследования были проведены в следующих направлениях. Было изучено вертикальное распределение бактерий в сапропелях, исследовалась мощность слоя иловых отложений, где микробиологические процессы распада органического вещества идут достаточно активно, и выяснялись причины, задерживающие дальнейший распад ила на больших глубинах.

Нашими работами было установлено (Карзинкин и Кузнецов [2], Кузнецов [9], Хартулари [25], Экзерцев [31], Кузнецов [13]) и подтверждено работами других исследователей, что общее число микроорганизмов в поверхностных слоях сапропелей ряда озер Московской области исчисляется сотнями миллионов на 1 г сырого ила, и, как видно из табл. 3, в ряде случаев достигает 6—7% от общего количества органического вещества ила.

Уже первые работы Омелянского [16] показали, что с глубиной общее количество микроорганизмов начинает падать. Он высказал предположение [17], что распад органических веществ сапропеля прекращается на глубине 25 см из-за накопления продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

В настоящее время имеется уже значительное количество материалов по вертикальному распределению бактерий в толще сапропеля целого ряда озер.

На рис. 3 мы приводим данные некоторых наших анализов по иловым отложениям ледниковых озер Белого и Черного Московской области и озер Борового и Пустынного Кокчетавской и Курганской областей из районов, никогда не подвергавшихся оледенению.

Таблица 3

Общее число бактерий в поверхностных слоях сапропелей

(Учет микроскопическим методом)

Название озер	Зольность ила в % от сухого веса	Количество бактерий в миллионах на 1 г сырого ила	Количество бактерий в миллионах на 1 г сухого ила	% бактериальной биомассы от общего колич. органического вещества
Белое	54,1	2326	54 219	7,8
Медвежье	58,3	1905	38 253	6,0
Черное	49,3	1285	35 109	4,5
М. Медвежье	47,3	1624	32 032	4,0
Святое	18,6	922	29 790	2,3
Круглое	79,2	1110	7 991	2,5

Данные показывают, что хотя общее количество бактерий и падает в поверхностных горизонтах, но не спускается ниже 200 000 000 на 1 г сырого ила. Иная картина получается, если вести учет бактериальных организмов путем высева на питательные среды. Высев на питательный агар дает возможность учесть количество сапрофитных форм.

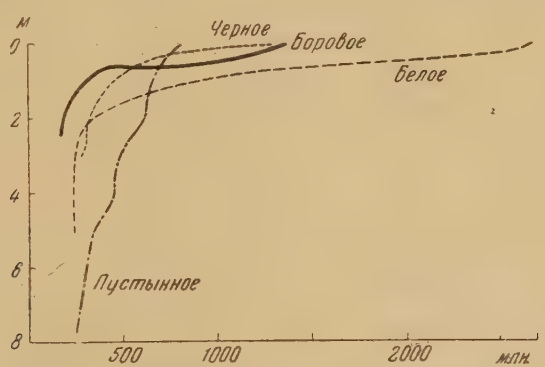


Рис. 3. Вертикальное распределение общего количества бактерий в иловых отложениях ряда озер

Как видно из табл. 4, количество последних выражается гораздо меньшими величинами и очень резко падает в поверхностных горизонтах, сходя на-нет на глубине 1 м.

Мы ни в коей мере не отождествляем количество сапрофитных форм с общим количеством бактерий, учитываемых прямым методом. Эту группу бактерий мы склонны рассматривать как показательную, по которой можно судить, насколько падает количество организмов, использующих усвояемые белковые соединения. Интересно отметить, что падение сапрофитных форм не связано с недостатком аэрации, так как по аналогичной кривой падает с погружением в ил и количество анаэробных форм.

Многочисленные анализы по изучению вертикального распределения в сапропелях отдельных физиологических групп микроорганизмов носили в основном качественный характер. Лишь в работе Штурм и Канунниковой [30] приводится ряд количественных данных. Суммарные данные наших анализов и результаты этих исследований сведены в табл. 5.

Таблица 4

Вертикальное распределение сапрофитных бактерий в сапропелевых отложениях озер (в тысячах на 1 г ила)

Глубина от поверхности ила в м	Название озер		
	Бисерово	Пиявочное	Коломенское
0,0	42	220	15
0,1	12	50	—
0,3	7	10	5,0
0,6	7	—	4,0
1,0	5	—	3,0
1,5	—	0,6	—
2,0	1,2	—	1,0
2,5	—	0,2	—
3,0	1,1	—	0,4
4,0	0,5	—	0,04
5,0	0,2	—	0,03

Суммируя все данные учета бактерий путем посевов на универсальные или элективные питательные среды, мы приходим к выводу, что приблизительно с 60 см от поверхности ила наблюдается очень сильное снижение бактериального населения.

Специальное исследование мощности слоя иловых отложений евтрофных озер, где достаточно энергично идут процессы распада органического вещества, было проведено Экзерцевым [31]. Он полностью подтвердил наши соображения. Одновременно, путем более детальных анализов, а также определения окислительно-восстановительного потенциала ила, электропроводности илового раствора и измерения интенсивности процесса обрастания предметного стекла бактериями, он показал, что мощность этого слоя колеблется в пределах 30—60 см в зависимости от характера водоема.

Соответствующие исследования процессов распада органического вещества подробно изучались нами (Кузнецов и Хартулари [10], Хартулари [25]) на примере сапропелевых отложений Белого озера в Косине. Результаты этих исследований показали, что существует определенная зависимость между распадом сапропеля и образованием метана и водорода. Иными словами, наличие образования метана и водорода в опытах по сбраживанию ила может служить указанием на то, что и в водоеме на испытуемом горизонте идут процессы минерализации органического вещества.

Таблица 5

Вертикальное распределение отдельных физиологических групп бактерий в сапропелях (в тысячах на 1 г)

Глубина в м	Озеро Пиявочное				Озеро Андреевское		Озеро Липовое	
	Аммонификаторы		Клетчатковые	Clostridium Pasteurianum	Клетчатковые	Разрушающие жирные кислоты	Клетчатковые	Разрушающие жирные кислоты
	Аэробы	Анаэробы						
0	220	35	0,2	0,2	10	0,1	1	0
0,5	7	1,3	0,02	0,04	1	0,1	0,1	0
1	—	—	0,003	0,005	0,3	0,01	0,1	0
3	0,2	0,3	0,004	0,003	0	0	0,1	0
6	—	0,3	—	0,003	—	—	—	—

В результате проведенных исследований была составлена схема, иллюстрирующая направление распада отдельных компонентов иловых отложений (рис. 4).

Так, гемицеллюлозы и клетчатка в основном разлагаются с образованием жирных кислот, углекислоты и водорода (Clausen [33]). Метан образуется при дальнейшем анаэробном распаде жирных кислот и за счет конденсации углекислоты и водорода.

По последним данным Prevot (35) по этой же схеме могут распадаться и некоторые аминокислоты. Свободный азот также образуется при анаэробном распаде белковых веществ и аминокислот, как это по-

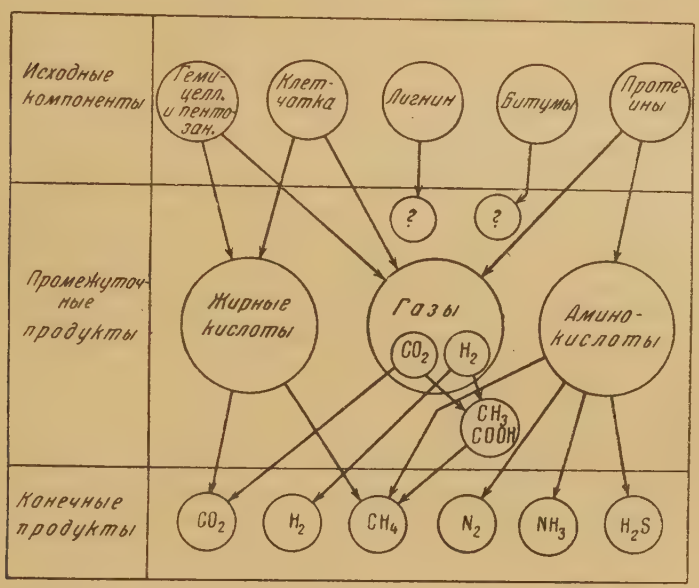


Рис. 4. Схема процессов анаэробного распада органического вещества сапропелей

казали Корольков [4], Bach и Sierp [32] и другие. Прежняя точка зрения, согласно которой битуминозная часть органического вещества иловых отложений мало подвергается воздействию бактерий, в настоящее время должна быть в значительной мере пересмотрена. Некоторые данные, полученные нами (Кузнецов [13]) для поверхностных слоев иловых отложений озер Западной Сибири и Северного Казахстана по распространению бактерий, окисляющих углеводороды, сведены в табл. 6 и выражены в процентах встречаемости от числа обследованных озер.

Из таблицы видно, что бактерии, окисляющие газообразные и жидкие углеводороды, широко распространены в сапропелях и, очевидно, процессы разрушения этих углеводородов могут итти на глубину до одного метра

Пожалуй еще шире распространены в иловых отложениях бактерии, способные окислять нафталин и фталевую кислоту (Кузнецов [11]). На широкое распространение в сапропелях, разрушающих парафин, воска и жиры, указывают Штурм и Орлова [26], Штурм и Федоровская [29], Штурм, Мессинева и Федоровская [28]. Сравнительно легко в анаэробных условиях битуминозные вещества могут разрушаться в процессах редукции сульфатов (Таусон [22]). Наиболее устойчивым в анаэробных условиях остается лигнино-гумусовый комплекс.

Однако, сопоставляя все вышеприведенные цифры по вертикальному распределению отдельных физиологических групп бактерий с данными

Таблица 6

Распределение в иловых отложениях бактерий, окисляющих углеводороды

Глубина от поверхности ила в м	Количество обследованных образцов	Бактерии окисляющие					
		водород	метан	пропан	гексан	фталиевую кислоту	нафталин
Поверхность	15	53	73	0	50	100	75
0,5	8	50	38	25	12	100	50
1,0	6	17	17	0	17	100	—
1,5	2	0	0	0	0	—	—
2,0	3	0	0	0	0	100	—
2,5	1	0	0	0	0	100	50

химических анализов, мы приходим к выводу, что на глубине приблизительно 1 м дальнейший распад органического вещества сапропелей сильно задерживается, если не замирает полностью. Явление это требовало своего дальнейшего разъяснения, так как химический анализ постоянно указывал на наличие гемицеллюлозы, клетчатки и азотсодержащих компонентов органического вещества. Более того, зачастую глубинные слои сапропелей содержат большее количество органического вещества, чем поверхностные.

В качестве причины задержки дальнейшего распада органического вещества можно было считать или накопление продуктов обмена микроорганизмов, которые задерживают их дальнейшую жизнедеятельность (Омелянский [17]), или просто недостаток органических веществ, способных к дальнейшему распаду. Для разъяснения этого вопроса мы применили биологический метод анализа. К образцам иловых отложений добавлялись углеводы или белковые соединения, или одновременно вводилась в качестве показательного организма культура дрожжей. Затем мы помещали болтушку ила в трубки Дунбара и наблюдали образование газа за счет анаэробного распада органического вещества.

Указанная схема опыта давала возможность решить следующие вопросы: 1) идет ли распад самого органического вещества ила с образованием газообразных продуктов; 2) не задерживает ли брожение недостаток легкоусвояемых форм органического вещества типа углеводов; 3) не задерживает ли брожение недостаток легкоусвояемых форм органического азота; 4) не задерживается ли распад с образцами иловых отложений из-за накопления ядовитых продуктов обмена микроорганизмов. Исследования были проведены с образцами иловых отложений из озер Западной Сибири и Северного Казахстана, районов, не подвергающихся оледенению.

Средние данные анализов иловых отложений по различным горизонтам сведены в табл. 7.

Высокие цифры выделения газа при одновременном добавлении глюкозы и пептона показывают, что микрофлора в иловых отложениях может быстро активироваться, а отсутствие выделения газа в опытах без глюкозы и пептона говорит о том, что углеводы и легкоусвояемые белковые вещества содержатся в илу только до глубины 0,5 м. Очевидно, глубже этого горизонта уже все выброжено и это задерживает распад ила.

Сравнение с опытами, где отдельно внесена глюкоза или пептон, показывает, что задержка распада ила в первую очередь происходит вследствие того, что полностью разрушается доступный для микроорганизмов углеводный комплекс.

В противоположность нашему прежнему мнению (Кузнецов [8]), недостаток азотистых продуктов стоит на втором месте, так как его прибав-

Таблица 7

Средние данные анализов по влиянию глюкозы и пептона на количество выделившегося газа при брожении ила в лабораторных условиях

Глубина от поверхности ила	Количество обследованных образцов	Среднее выделение газа в %				
		Ил без добавок	Добавка глюкозы	Добавка пептона	Добавка глюкозы и пептона	То же и дрожжи
Поверхность	18	1	80	19	100	100
0,5	10	0,2	68	11	100	100
1,0	8	0	75	5	100	100
2,0	5	0	44	5	100	100
3,0	2	0	45	4	100	100
4,0	1	0	45	3	100	100
5,0	1	0	45	1	100	100
6,0	1	0	40	1	100	100
7,0	1	0	30	5	100	100
8,0	1	0	30	0	100	100

ление вызывает значительно более слабую реакцию газовыделения, чем прибавление углеводов.

Снижение цифры газовыделения с глубиной взятия образца показывает, что происходит резкое и одновременное снижение как углеводной, так и азотистой части усвояемого комплекса органического вещества ила.

Обсуждение полученных результатов

Теория Тинемана, Наумана и других о единообразии путей развития озера теперь уже устарела. Ранее считалось, что водоем вначале имеет олиготрофную стадию развития, затем проходит через евтрофную и дистрофную и, наконец, превращается в болото. В настоящее время эта точка зрения должна быть отставлена.

Палеолимнологические и химические исследования Кудряшова [5, 6], по Косинским озерам, Сукачева и Поплавской [21], Ласточкина [14] и Титова [24] по Уральским озерам с несомненностью показали, что пути развития озер весьма многообразны и зависят от внутренних и внешних факторов. Так, необходимо учитывать значительные климатические изменения, которые происходили на протяжении голоцена, невозможно игнорировать роль размеров и качественных особенностей бассейна озера, а также тектонические факторы. В частности, в горных районах Урала этот последний фактор мог быть определяющим. По мнению Сукачева [20], тектоника играет ведущую роль в возрождении озер к новой жизни. Внутренние факторы — это те изменения трофии водоема, которые происходят под воздействием внешней среды. Указанные авторы показали, что зачастую развитие озера начиналось с евтрофной стадии, затем шло заболачивание, часто сменявшееся обильным отложением известковых сапропелитов. Наступившее повышение уровня воды могло вновь вызвать появление евтрофной стадии с массовым развитием донных синезеленых водорослей и переходом известковистых сапропелитов в типичные темноцветные сапропели.

Таким образом, становится совершенно очевидным, что нельзя судить о разложении органического вещества сапропелей в тех случаях, когда имеет место увеличение зольности сапропелей с глубиной залегания (Соловьев [18]).

Микробиологические анализы показывают, что как количество микроорганизмов, так и самый распад органического вещества сосредоточены

в основном в самых поверхностных слоях иловых отложений. На глубине 1 м практически все процессы распада органического вещества приостанавливаются.

Задержка распада происходит в основном вследствие того, что легко разрушаемые вещества типа углеводов успевают полностью разрушиться за тот срок времени, пока происходит их захоронение на глубину 1 м.

Несмотря на то, что химический анализ в этих образцах показывает наличие клетчатки, последняя, как показали наши опыты с илом из Белого озера в Косине (Кузнецов и Хартулари [10]), не подвергаются дальнейшему распаду, даже если мы вносим извне культуру анаэробных бактерий, разрушающих клетчатку. Стоит, однако, в этих же условиях добавить, кроме культуры Bac. fossicularus, еще клетчатку в виде фильтровальной бумаги, как начинается ее бурный распад с выделением газов.

Это указывает на то, что либо клетчатка окружена какими-то веществами, предохраняющими ее от дальнейшего распада, либо то, что мы принимаем за клетчатку на основании восстановления фелинговой жидкости после гидролиза ила крепкой серной кислотой, является продуктами распада белковых веществ или лигнино-гумусового комплекса, недоступного воздействию бактерий в анаэробных условиях.

Не расшифрованным до настоящего времени остается расхождение между учетом общего количества бактерий прямым методом и методами посевов на питательные среды.

Учитываемые микроскопическим методом десятки миллионов бактерий в глубинных отложениях сапропелей и наличие активных ферментов должны указывать на то, что там в какой-то мере протекают процессы диагенеза, однако нет никаких оснований полагать, что они идут в направлении накопления битумов или веществ типа углеводородов.

Исследованные нами иловые отложения озер Западной Сибири и Северного Казахстана, где озера расположены на третичных отложениях, выступающих на дневную поверхность, нигде не дали возможности наблюдать переходов от современных сапропелей к ископаемым углям или нефти.

Выводы

1. Основной распад веществ илообразователей происходит еще в водной массе озера.

2. Дальнейший распад органических веществ, осевших из воды на дно, происходит в верхнем слое ила мощностью в 60—100 см. На этой глубине образуется уже устойчивый комплекс органических веществ, характеризующих данный сапропель.

3. На глубине, превышающей слой активного распада органического вещества, возможен дальнейший чрезвычайно медленный процесс преобразования сапропелей, однако если он и идет, то не в сторону увеличения битуминозной части и не приводит к значительной минерализации органического вещества.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 17. II. 1950 г

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаевская Н. С. Трофологическое направление в гидробиологии, его объект, некоторые основные проблемы и задачи. Сб. памяти С. А. Зернова, 27, 1948.
2. Карзинкин Г. С. и Кузнецов С. И. Новые методы в лимнологии. Тр. Лимн. станции в Косине, вып. 13—14, 47, 1931.
3. Кастальская-Карзинкина М. А. Опыт применения метода учета живых и отмерших компонентов в изучении планктона Глубокого озера. Тр. Лимн. станции в Косине, вып. 21, 143, 1937.
4. Корольков К. Н. Распад осадка в анаэробных условиях. Тр. Совещания по очистке сточн. вод при Упр. канализ. МКХ, вып. 8, 1926.

5. Кудряшов В. В. Основные моменты истории Косинских озер. Тр. Косинской биол. станции, 1 (1), 3, 1924.
6. Кудряшов В. В. (Kudriaschow W.) Zur Geschichte der Seen in postglazialer Zeit. Verch. Int. Ver. f. Limn. 3, 1927.
7. Кузнецов С. И. Сравнительное изучение азотного, фосфорного и кислородного режима Глубокого и Белого озер. Тр. Лимн. станции в Косине, вып. 17, 49, 1934.
8. Кузнецов С. И. Влияние запаса легкогидролизуемого азота в илу на общий характер восстановительных процессов в различных озерах. Микробиология, VI, 186, 1937.
9. Кузнецов С. И. Количественный учет микрофлоры в связи с разработкой микрозонального показателя грязей. Микробиология, VII, 36, 1938.
10. Кузнецов С. И. и Хартулари Е. М. Микробиологическая характеристика процессов анаэробного распада органического вещества ила Белого озера в Косине. Микробиология, X, 834, 1941.
11. Кузнецов С. И. Распространение в озерах бактерий, окисляющих газообразные и жидкие углеводороды. Микробиология, XVI, 429, 1947.
12. Кузнецов С. И. Применение микробиологических методов к изучению органического вещества в водоемах. Микробиология, XVIII, 203, 1949 а.
13. Кузнецов С. И. Микробиологические исследования распада органического вещества в озерных иловых отложениях. Тр. Русск. гидроб. о-ва, вып. 1, 1949 б.
14. Ласточкин Д. А. Очерки по палеолимнологии Урала. Тр. лабор. сапроп. отл. вып. 3, 101, 1949.
15. Мессинева М. А. и Горбунова А. И. Процесс разложения макрофитов пресных озер и участие их остатков в формировании озерных иловых отложений. Изв. АН СССР. Серия биол., вып. 5, 565, 1946.
16. Омелянский В. Л. (Omeljanski W.) Über die Methabildung in der Natur bei biologischen Prozessen. Ctbl. Bakt. Ab. II, 15, 673, 1906.
17. Омелянский В. Л. Заметка о сапропеле. Изв. сапроп. ком., вып. 2, 11, 1925.
18. Соловьев М. М. Проблемы сапропеля в СССР. Изд. АН СССР, 1932.
19. Сперанская Т. А. Данные по изучению органического вещества иловых озерных отложений. Тр. Лимн. станции в Косине, вып. 20, 67, 1935.
20. Сукачев В. Н. Болота, их образование, развитие и свойства. Изд. 3-е, 1926.
21. Сукачев В. Н. и Поплавская Г. М. Очерк истории озер и растительности Среднего Урала. Бюлл. Комм. по изуч. четв. периода, № 8, 1946.
22. Таусон В. О. и Алешина В. И. Восстановление сульфатов бактериями в присутствии углеводородов. Микробиология, I, 229, 1932.
23. Таусон В. О. Наследство микробов. Изд. АН СССР, 1947.
24. Титов Е. М. О химическом составе золы уральских сапропелей и к вопросу об образовании известковистых сапропелей. Тр. Лаб. сапроп. отлож. вып. 3, 29, 1949.
25. Хартулари Е. М. Бактериологические и химические исследования ряда подмосковных озер в связи с вопросом разложения ила с образованием газов. Тр. Лимн. станции в Косине, вып. 22, 115, 1939.
26. Штурм Л. Д. и Орлова С. И. О превращении жира, парафина и пальмитиновых кислот под влиянием микроорганизмов из Алакульского озера. Микробиология, VI, 754, 1937.
27. Штурм Л. Д. К терминологии озерных отложений. Тр. лаб. генезиса сапропеля вып. 1, 5, 1939.
28. Штурм Л. Д., Мессинова М. А. и Федоровская Н. П. Микробиологическое исследование иловых отложений озера Борковского. Тр. Лаб. генеза сапропеля, вып. 2, 115, 1941.
29. Штурм Л. Д. и Федоровская Н. П. Изучение превращения жировых веществ в связи с генезисом иловых отложений. Тр. лаб. генезиса сапропеля, вып. 2, 93, 1941.
30. Штурм Л. Д. и Канунникова З. А. Распределение микроорганизмов в пресноводных иловых отложениях. Микробиология, XIV, 260, 1945.
31. Экзерцов В. А. Определение мощности микробиологически-активного слоя иловых отложений некоторых озер. Микробиология, XVII, 476, 1948.
32. Bach u. Sierp. Zur Frage der Stickstoffbildung in Abwasserfaulräumen. Ctbl., Bakt. II Abt. 50, I, 1923.
33. Clausen P. Studien über anaërobe Zellulosebazillen unter besonderer Berücksichtigung der Züchtungstechnick. Ctbl. Bakt., Abt. II, 84, 20, 1931.
34. Lundqvist E. Bodenablagerung und Entwicklungstypen der Seen. Die Binnengewässer, 2, 1927.
35. Prévot A. R. Recherches sur la flore anaérobie des boues méhamogènes naturelles. C. R., 222, 236, 1946.

МИКРОЗОНАЛЬНОСТЬ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГЕТЕРОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В МОРЕ

А. Е. Крисс, Е. А. Рукина и *В. И. Бирюзова*

В литературе, посвященной микробиологии моря, можно встретить ряд сообщений о характере количественного распределения микроорганизмов в толще морской воды. Подавляющее большинство наблюдений было сделано в прибрежной зоне и на сравнительно небольших глубинах, и лишь некоторая часть исследований относится к открытым районам океана, далеко расположенным от берегов, охватывая толщу воды в тысячу метров и более.

Данные, приводимые различными исследователями, свидетельствуют об отсутствии одинаковых результатов: Drew [7], например, указывает, что с глубиной наблюдалось закономерное падение числа микроорганизмов — им определялось количество бактерий на горизонтах от поверхности воды, примерно до 1500 м. С другой стороны, Russell [8] сообщил об одинаковом содержании микроорганизмов в поверхностном слое и на глубине 1100 м. Заметим далее, что кривая вертикального распространения бактерий, вычерченная ZoBell [9] на основании среднего значения цифр, полученных им на различных станциях у побережья Калифорнии, сглаживает данные, относящиеся к каждой станции в отдельности, которые существенно, как указывает сам автор, различались между собой. Не на всех станциях наблюдалось закономерное повышение числа бактерий до глубины 50 м и глубже, на нижележащих горизонтах наблюдалось постепенное уменьшение числа бактерий почти до нуля.

Следует здесь подчеркнуть, что все данные, характеризующие закономерности количественного распределения микробных форм в морской воде, получены авторами с помощью метода счета колоний на сложных органических средах и, следовательно, выражают в какой-то приближенной мере (Крисс и Рукина [4]) лишь число клеток тех гетеротрофных микробных видов, которые способны развиваться на искусственных субстратах (рыбо- или мясопептонный агар или желатина) в лабораторной обстановке. Этот метод счета колоний был применен и в наших исследованиях количественного распространения микроорганизмов в вертикальном разрезе от поверхности до максимальных глубин в открытых далеко расположенных от берегов районах Черного моря, а также на станциях разреза: берег — 60 миль. На протяжении четырех лет — 1946, 1948, 1949 и 1950 гг. было исследовано около 400 проб воды по горизонтам от поверхности до придонных слоев воды. Учитывалось не только общее число выраставших колоний, но и в отдельности число колоний представителей различных систематических групп микроорганизмов. Обобщение всего собранного материала, представляющего несомненный интерес, и составляет содержание этой статьи.

Пробы воды на большинстве станций извлекались до глубины 250 м по горизонтам: 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 м, а глубже по горизонтам: 300, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 1750, 2000 м. Для извлечения проб воды применялись батометры Кнудсена. Наполненные батометры переносились в оборудованную на судне лабораторию, где тотчас же пробы воды засевались в количестве 0,1, 0,25 или 0,5 мл на рыбопептонный агар, приготовленный на морской воде или фильтрова-

лись в количество 20 мл через хорошо прокипяченные мембранные фильтры № 2, которые производятся Мытищенской фабрикой мембранных ультрафильтров для санитарно-бактериологического анализа. После окончания фильтрации, проводившейся в условиях вакуума с помощью ручного насоса Комовского, фильтры раскладывались на поверхности рыбопептонного агара для проращивания осевших на фильтре клеток микроорганизмов. Через 3—5 дней температурной инкубации при 22—30° сосчитывалось общее число колоний, выросших на поверхности агара или мембранного фильтра. Вслед за общим подсчетом производилась микроскопия препаратов из каждой колонии, при этом учитывалась численность представителей различных систематических групп микроорганизмов.

В табл. 1 приведены цифры, выражающие число колоний, выросших на поверхности рыбопептонного агара, в пересчете на 1 мл воды. Эта таблица дает отчетливое представление о распределении гетеротрофных форм микроорганизмов в глубинах моря. Прежде всего, при анализе приведенных в ней данных выступает неравномерность в количественном содержании микроорганизмов на различных горизонтах водной толщи, отсутствие каких-либо закономерностей в вертикальном распространении тех микробных видов, которые способны развиваться на рыбопептонном агаре.

Чаще всего число колоний в 1 мл воды составляло единицы или десятки, но, однако, из некоторых проб вырастали и сотни колоний. Такие пробы воды были получены в 1946 г. на первой станции с горизонтов: 0, 25, 1500 и 2000 м, на четвертой станции — с горизонтов: 0 и 750 м, на пятой станции — с горизонта 175 м. С другой стороны, при посеве 0,1, 0,25 или 0,5 мл, из ряда проб не вырастало ни одной колонии. Такие «стерильные» пробы, т. е. не содержащие в указанных количествах воды даже одной клетки, способной размножаться на рыбопептонном агаре, принесли батометры с глубин 175, 200, 500, 1250 м на первой станции, с глубин 25, 50, 75, 100, 200, 750 и 2000 м на второй, с глубин 175, 200, 1000 м на третьей, с глубин 25, 125, 150, 500, 1500, 1750 м на четвертой и с глубин 75, 250, 1000 м на пятой станции. Таким образом, амплитуда колебаний численности гетеротрофных микроорганизмов при посеве одних и тех же количеств воды из разных слоев водной толщи была в пределах, не говоря уже о более мелких колебаниях в числе единиц или десятков, от нуля до нескольких сотен. Такой размах колебаний выходит далеко за рамки погрешностей примененного метода.

Мы не приводим данных, полученных на глубоководных, далеко расположенных от берегов станциях в 1948 г., так как они по своему характеру не отличаются от результатов исследований в 1946 г. В 1949 г. была несколько изменена методика: если в предыдущие годы посевы делались на максимально остуженный перед разливкой в чашки Петри рыбопептонный агар, но с неподсушенной поверхностью, то в 1949 г. перед засевом производилось подсушивание его. Это способствовало большей ограниченности роста колоний, уменьшало возможность антагонистических влияний и препятствовало растеканию по поверхности агара распространенных в морской воде бактериальных видов с ползучим, подобно протею, ростом.

На станциях в 1949 г. повторилась уже известная картина: неожиданно высокие цифры выраставших колоний на некоторых горизонтах и, наряду с этим, отсутствие роста при посеве проб из других слоев воды (табл. 1).

Легко видеть, сопоставляя данные, полученные на всех станциях в различные годы, что нет приуроченности гетеротрофных микроорганизмов к определенным горизонтам водной толщи моря. Даже вычисляя средние значения цифр последовательно для исследованных горизонтов, нельзя подтвердить данные ZoBell о наличии максимума в численности этих

Таблица 1

Количественное распределение гетеротрофных микроорганизмов на различных глубинах в открытых, далеко расположенных от берегов районах моря

(Число колоний в пересчете на 1 мл воды)

Глубина в м	1946 г.																				1949 г.											
	первая станция				вторая станция				третья станция				четвертая станция				пятая станция				первая станция				вторая станция				третья станция			
	общее число колоний	кокки	палочки	грибы	общее число колоний	кокки	палочки	грибы	общее число колоний	кокки	палочки	грибы	общее число колоний	кокки	палочки	грибы	общее число колоний	кокки	палочки	грибы	общее число колоний	кокки	палочки	грибы	общее число колоний	кокки	палочки	грибы	общее число колоний	кокки	палочки	грибы
0	340	0	320	20	66	0	66	0	42	34	8	0	124			0	64			0	80	10	60	10 актино-миц.	330	150	180	0	20	10	10	0
25	410	0	410	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	8	0	0	8	30	20	10	0	70	70	0	0	160	130	30	0
50	50	30	20	0	0	0	0	0	2	0	2	0	8	0	8	0	8	0	8	0	320	20	300	0	20	20	0	0	90	80	0	10
75	10	10	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	4	0	4	0	0	0	0	0	20	10	10	0	20	0	0	20	10	0	10	0
100	30	20	0	10	0	0	0	0	8	0	0	8	16	0	16	0	44	0	44	0	10	0	0	10 дрожжи	10	0	0	10	10	0	0	10
125	30	20	0	10	2	0	2	0	4	0	4	0	0	0	0	0	36	0	36	0	20	0	20	0	50	30	10	10	0	0	0	0
150	20	10	0	10	14	6	2	6	2	0	2	0	0	0	0	0	12	0	12	0	270	130	140	0	20	0	10	10	30	0	30	0
175	0	0	0	0	74	0	70	4	0	0	0	0	12	12	0	0	104	0	104	0	250	160	90	0	40	20	10	10 дрожжи	40	0	40	0
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4	0	40	0	40	0	20	10	10	0	0	0	0	0	20	20	0	0
225	10	10	0	0	16	0	16	0	2	2	0	0	8			0	36	0	36	0	20	10	0	10	20	10	10	0	10	10	0	0
250	10	0	0	10	6	0	6	0	4	0	4	0	4	0	4	0	0	0	0	0	90	20	40	30	0	0	0	0	20	0	0	20
300																					20	0	20	0	150	140	0	10	10	0	0	10
500	0	0	0	0	20	0	20	0	2	2	0	0	0	0	0	0	8				30	20	10	0	100	10	90	0	0	0	0	0
750	10	0	0	10	0	0	0	0	6	2	4	0	128	0	128	0	8				30	0	20	10	10	0	0	10	0	0	0	0
1000	10	10	0	0	6	4	0	2	0	0	0	0	20			0	0	0	0	0	290	110	170	10	330	320	0	10	10	0	0	10
1250	0	0	0	0	18	4	14	0	78	0	78	0	4	0	4	0	4	0	4	0	0	0	0	0	30	0	30	0	70	0	60	10
1500	550	0	550	0	20	0	20	0	2	0	2	0	0	0	0	0	8	0	8	0	400	0	400	0	10	0	0	10	10	10	0	0
1750	50	30	10	10	14	14	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0					70	50	20	0	80	40	40	0	0	0	0	0
2000	300	300	0	0	0	0	0	0	52	52	0	0	8	8	0	0					420	0	410	10	0	0	0	0	30	20	0	10

микробных форм в зоне 50—75 м. Можно лишь отмегить, что частота встречаемости гетеротрофов, растущих на рыбопептонном агаре, относительно выше в кислородной зоне Черного моря, где концентрируется животная и растительная жизнь: здесь реже обнаруживались «стерильные» пробы, чем в нижележащих слоях воды. Однако максимальные значения цифр — несколько сотен — определены на ряде станций не только в слое воды до верхней границы сероводорода, но и на больших глубинах в сероводородной области (например, данные, полученные в 1946 г. с горизонтов: 1500 и 2000 м на первой станции; 750 м на четвертой, а в 1949 г. с горизонтов 1000, 1500 и 2000 м на первой станции, 300 и 1000 м на второй).

Неравномерность в концентрации микроорганизмов-гетеротрофов в 1 мл воды, наблюдающаяся в вертикальном и горизонтальном разрезах,— закономерное явление. Даже в поверхностных слоях моря, где действуют факторы энергичного перемешивания, казалось бы, создающие условия для равномерного распределения микробных клеток в этих слоях, наблюдается ясно выраженная очаговость в распространении микроорганизмов: колебания от нуля до нескольких сотен колоний гетеротрофов на 1 мл воды.

Не только в пробах с данного горизонта на разных станциях или на различных глубинах одной и той же станции, но и в одной и той же пробе воды, исследуя 1 мл за другим, как показали исследования наши и других авторов, можно обнаружить существенные колебания в концентрации гетеротрофных микроорганизмов в каждом миллилитре воды.

Поэтому, естественно, представил большой интерес вопрос о том, выявляется ли микрозональность и при исследовании больших объемов воды,— или средние значения цифр для таких объемов, уравнивающие различные концентрации микробных клеток в каждом миллилитре, дадут возможность охарактеризовать общие закономерности вертикального и горизонтального распространения микроорганизмов в водной толще моря.

Для ответа на этот вопрос в 1950 г. были предприняты широкие сравнительные исследования в виде разреза от берега в открытую часть моря на 60 миль с рядом станций на этом разрезе: 0,5 мили от берега, 2, 10, 20, 30, 50 и 60 миль от побережья. Это позволило сравнить содержание микроорганизмов-гетеротрофов на разных глубинах как прибрежных, так и расположенных на различном удалении от берега станциях, а также проследить влияние берега на поверхностные слои воды в отношении гетеротрофов по сравнению с открытым морем. Существенное отличие от предыдущих исследований выразилось в том, что определялось количество гетеротрофных микроорганизмов не в 0,1, 0,25 или 0,5 мл, а в 20 мл воды каждой пробы.

При рассмотрении полученных данных (табл. 2) прежде всего становится очевидным, что метод проращивания мембранных фильтров дает преуменьшенные цифры по сравнению с методом посевов, но об этом подробно будет обсуждено в сообщении Рукиной и Тихоненко, подготавливаемом к печати. Важно сейчас остановить свое внимание не на абсолютном значении цифр, которые, как и при методе посевов, не соответствуют действительному количеству микроорганизмов в морской воде, а на сопоставлении этих цифр.

При таком анализе данных в табл. 2 отчетливо вырисовывается та же характерная особенность в распространении гетеротрофных микроорганизмов в море: очаговость в их распределении как в вертикальном, так и в горизонтальном разрезах. Исследуя большие объемы воды — 20 мл, уже не удается встретить «стерильных» проб, но колебания в численности гетеротрофов столь же не укладываются в рамки каких-либо закономерностей, как и в предыдущих исследованиях. Влияние берега заметно сказывается в виде очень большого числа колоний, не поддающегося учету. На станции в 0,5 мили от берега масса колоний вырастала на

Количественное распределение гетеротрофных микроорга

(Число колоний

Глубина в м	Расстояния								
	0,5 мили			2 мили			10 миль		
	общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки
0	Масса колоний	5	Преобладающие формы	69 (дрожжи—1)		68	28 (гриба—3)	2	23
5	Масса колоний	18	Преобладающие формы	69* (дрожжи—2)		67	Сливной рост + 27 колоний	0	Преобладающие формы
10	Масса колоний	0	Преобладающие формы	Масса колоний	1	Преобладающие формы	Сливной рост + 132 колонии (гриб—1)		Преобладающие формы
25	93 (дрожжи—1)		92	111 (дрожжи—2)	2	107	Сливной рост + 2 колонии	2	Преобладающие формы
50				61	1	60	53	1	52
75							92	7	85
100							184	1	183
125							192 (дрожжи — 1)	1	190
150							84	6	78
175							45	4	41
200							Сливной рост+77 колоний	0	Преобладающие формы
225									
250							Сливной рост + 3 колонии	0	Преобладающие формы

Таблица 2

низмов на различных глубинах на разрезе: берег — 60 миль

из 20 мл воды)

ние от берега											
20 миль			30 миль			50 миль			60 миль		
общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки
Масса колоний	4	Преобладающие формы	32**	12	20	Сливной рост + + 131 колония	11	Преобладающие формы	189	17	172
44	3	41	48	15	33	49	2	47	48	5	43
85	0	85	Сливной рост + + 73 колонии	0	Преобладающие формы	48	0	48	18	3	15
87	11	76	119	0	119	11	11	0	87	1	86
Масса колоний	0	Преобладающие формы	25	4	21	241**	0	241	43	4	39
Сливной рост + + 118 колоний	3	Преобладающие формы	88	0	88	73**	1	72	12	5	7
Сливной рост + + 82 колонии	20	Преобладающие формы	181	0	181	Масса колоний	2	Преобладающие формы	54	0	54
158	1	157	Сливной рост		Преобладающие формы	Сливной рост + + 170 колоний	3	Преобладающие формы	242	34	208
Масса колоний	1	Преобладающие формы	25	9	16	139	13	126	87	1	86
Сливной рост + + 47 колоний	5	Преобладающие формы				176	0	176	23	0	23
Сливной рост + + 2 колонии	2	Преобладающие формы	56**	0	56	156	0	156			
									114	4	110
129	6	123	27	1	26	117	14	113	89	2	87

Глубина в м	Расстояния								
	0,5 мили			2 мили			10 миль		
	общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки
300							Сливной рост + 123 колонии	0	Преобладающие формы
500									
750									
1000									
1250									
1500									
1750									
2000									

Примечание. * В 25 мл воды; ** в 30 мл воды.

фильтре не только при фильтрации 20 мл воды из поверхностного горизонта, но и с глубины 5 и 10 м. Однако такие же пробы воды с очень высоким содержанием гетеротрофных форм микроорганизмов получены с поверхности воды и на расстоянии 20 миль от берега, а также с глубин 175 и 300 м на 50-мильной станции. Если проследить за распределением проб воды, которые дали на фильтрах сотни колоний, то нетрудно увидеть, что на разных станциях, независимо от расстояния от берега, они получены с самых различных горизонтов как кислородной, так и глубинных слоев сероводородной зоны — 1250, 2000 метров.

Как правило, при применении метода посевов и метода проращивания фильтров в подавляющем большинстве проб вырастают в преобладающем числе палочковидные формы бактерий, что находится в несоответствии с данными бактериоскопического исследования мембранных фильтров, через которые фильтровались те же пробы воды. Бактериоскопически палочки встречаются в значительно меньшем количестве по сравнению с кокковидными формами. Это несоответствие представляет большой интерес, так как указывает в известной степени на морфологию тех микробных видов, которые не поддаются культивированию на органических средах в лабораторной обстановке. Сравнительно реже на рыбопептонном агаре вырастали колонии грибов и очень редко колонии дрожжей и актиномицетов.

Выводы

Итак, если говорить о зональности в распределении гетеротрофных микроорганизмов в общей массе воды моря, то можно отметить численное преобладание этих микробных форм в тех слоях, где сосредоточена

Таблица 2 (продолжение)

ние от берега												
20 миль			30 миль			50 миль			60 миль			
общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки	общее число колоний	кокки	палочки
Сливной рост + + 37 колоний	4	Преобладающие формы	57	6	51	Масса колоний	1	Преобладающие формы	49	7	42
			36**	7	29	143	0	143			
			Сливной рост + + 55 колоний	2	Преобладающие формы	9**	1	8			
			86	4	82						
			237	0	237	39**	5	24			
			50	0	50	Сливной рост + + 61 колония	4	Преобладающие формы			
			57	0	57	2	1	1			
			213	0	213	259	0	259			

животная и растительная жизнь, по сравнению с нижележащими слоями воды. Заметно сказывается влияние берега: в непосредственной близости от него относительно велика концентрация гетеротрофов.

Однако при более детальном рассмотрении характера распространения микроорганизмов в водной толще моря как в зонах максимального расцвета микробной жизни (зона планктона, прибрежная зона), так и в зоне относительной бедности гетеротрофными формами микроорганизмов, например, на больших глубинах, обнаруживается неравномерность, микрозональность в их распределении. Здесь возможна аналогия с тем явлением очаговости, которая наблюдается (Красильников [3]) в почвах. Такая микрозональность в распределении выявлена не только в отношении гетеротрофов-аэробов, растущих на рыбопептонном агаре, но и в отношении таких анаэробов, как гетеротрофные десульфурирующие или денитрифицирующие формы (Крисс и Рукина [5, 6]). Явление микрозональности в распространении микроорганизмов не составляет особенности Черного моря, а свойственно и другим морям, как это можно заключить, анализируя данные Буткевича [1] о вертикальном распределении бактерий-гетеротрофов в Баренцовом и Исаченко [2] в Карском морях.

Будучи отражением неравномерности в распределении органического вещества в морских водоемах, явление микрозональности дает рисунок, тонкий узор распределения усвояемых для микроорганизмов форм взвешенного (субмикроскопических частиц) и растворенного органического вещества в различных слоях водной толщи моря.

Институт микробиологии АН СССР
Москва

Получено 25. I. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. Методика бактериологического исследования и некоторые данные по распределению бактерий в воде и грунтах Баренцова моря. Тр. Гос. океаногр. ин-та, 2, вып. 2, стр. 5, 1932.
2. Исаченко Б. Микробиологическая характеристика грунтов и воды Карского моря. Тр. Аркт. ин-та, 82, 7, 1937.
3. Красильников Н. Очаговое распространение микроорганизмов в почве. Изв. АН СССР, серия биол., № 1, 193, 1936.
4. Крисс А. и Рукина Е. Микробиология Черного моря. Распространение микроорганизмов в водной толще Черного моря. Микробиология, XVIII, вып. 2, 141, 1949.
5. Крисс А. и Рукина Е. О происхождении сероводорода в Черном море. Микробиология, XVIII, вып. 4, 332, 1949.
6. Крисс А. и Рукина Е. Восстановительные и окислительные процессы в сероводородной области Черного моря. Микробиология, XVIII, вып. 5, 402, 1949.
7. Drew G. Report of investigations on marine bacteria carried on at Andros Island, Bahamas. Yearbook Carnegie Inst. Wash., No. 11, 136, 1912.
8. Russell H. Untersuchungen über im Golf von Neapel lebende Bakterien. Z. Hyg., 11, 165, 1891.
9. ZoBell C. Marine microbiology, p. 67, 1946.

ВЛИЯНИЕ ТРИНИТРОТОЛУОЛА НА МИКРООРГАНИЗМЫ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ САМООЧИЩЕНИЯ ВОДЫ

Ц. И. Роговская

Установление степени токсичности промышленных сточных вод и их отдельных компонентов для микроорганизмов, определяющих биохимические процессы, протекающие в воде, имеет большое значение при решении вопросов, связанных со сбросом сточных вод в водоемы общественного пользования, а также с их обработкой на биологических очистных сооружениях. Одним из таких компонентов промышленной сточной воды является тринитротолуол.

Сточные воды, содержащие тринитротолуол, попадая в естественный водоем, изменяют его биологический и физико-химический режим, задерживают процессы самоочищения и делают непригодным для питьевого водоснабжения. Влияние тринитротолуола на водные микроорганизмы и биохимические процессы самоочищения воды почти не освещено в печати. Имеются лишь указания в работе Рёчоф (Ruchoff) и др. [2], изучавших очистку бытовых сточных вод с добавлением тринитротолуола физико-химическими и биологическими методами, что тринитротолуол не только тормозит и снижает скорость естественного самоочищения воды водоема, но также не распадается под влиянием биологических агентов. Авторы также отмечают, что концентрация 5 мг/л тринитротолуола смертельна для рыб.

Наши исследования должны были выяснить влияние тринитротолуола на микроорганизмы и биохимические процессы самоочищения воды, а также имелось в виду попытаться выяснить сущность процесса распада тринитротолуола.

Опыты проводились по методике, разработанной в Институте «ВОДГЕО» для решения аналогичных вопросов и уже апробированной на многочисленных веществах [1]. Помимо обычно принятых определений по ходу опыта следили за изменением содержания тринитротолуола [1].

В широкогорлые сосуды емкостью 4 л наливалось по 2 л фекально-хозяйственной сточной жидкости (окисляемость 20 мг/л) и добавлялся тринитротолуол (ТНТ) в количестве 0,5; 1; 5; 10; 15 и 25 мг/л. Контролем служила фекально-хозяйственная жидкость без добавления тринитротолуола. Использованный для опытов тринитротолуол имел точку плавления 81°, что соответствует химически чистому продукту. Опыты проводились при 20—24°. При введении тринитротолуола в фекально-хозяйственную жидкость наблюдалось изменение окраски раствора от слабожелтой в концентрациях 1—5 мг/л до интенсивно желтой при 10—25 мг/л. Некоторое окрашивание жидкости сохранялось до конца опыта.

В первый момент контакта тринитролуола со сточной жидкостью происходит снижение концентрации его в растворе на 82—97%, в дальнейшем это снижение продолжается, но уже со значительно меньшими скоростями (табл. 1).

---

[1] В работе принимала участие старший научный сотрудник Л. П. Александрова. Определение тринитротолуола в растворах производилось младшим научным сотрудником лаборатории Л. И. Шнеерсон.

Таблица 1

Изменение содержания тринитротолуола в растворах фекально-хозяйственной жидкости при стоянии

Исходная концентрация ТНТ в мг/л	Время от начала опыта				
	5 мин.	6 час.	24 час.	51 час.	240 час.
	Остаточное количество ТНТ в мг/л				
0,5	0,018	0	0	0	0
1,0	0,018	следы	0	0	0
5,0	0,42	0,42	0,42	0,29	0
10,0	1,0	1,0	1,0	0,22	0
15,0	2,73	2,73	1,72	0,6	0,3
25,0	—	—	6,9	1,54	1,04

Это явление отмечается и Рёчофом [2], который объясняет этот процесс наличием в сточной жидкости взвешенных органических веществ, но приводимые автором опыты недостаточно убедительны.

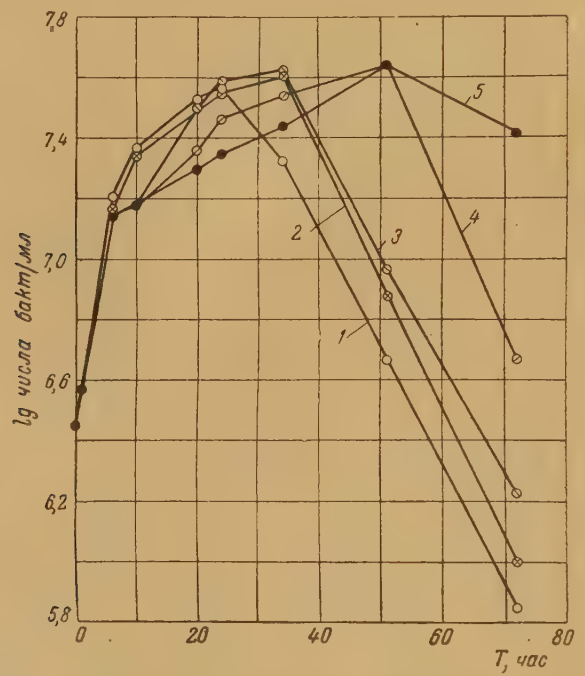


Рис. 1. Влияние тринитротолуола на развитие бактерий
1—0—0,5; *2*—1—5; *3*—10; *4*—15; *5*—25 мг/л ТНТ

Повидимому, в первый момент контакта сточной жидкости с тринитротолуолом имеют место физико-химические процессы (сорбция и, возможно, восстановление нитрогруппы до амидосоединений, поскольку тринитротолуол является сильным окислителем), а затем, с развитием соответствующей микрофлоры, идут биохимические процессы распада тринитротолуола.

Добавление тринитротолуола к фекально-хозяйственной жидкости сказалось на скорости развития бактерий в испытуемых растворах (рис. 1). Сравнение величин «времени генерации», вычисленных по фор-

муле $g = \frac{t \lg 2}{\lg B - \lg A}$ (где g — время генерации, A — число бактерий в начале наблюдений, B — то же через t минут подсчета), показывает, что при исходной концентрации тринитротолуола 0,5 мг/л g не отличается от контроля и выражается величинами 145—146 минут; начиная с 1,0 мг/л и выше, g повышается соответственно до 153—156.

Наблюдавшееся торможение процесса развития бактерий в растворах с исходной концентрацией тринитротолуола 1—10,0 мг/л заканчивалось к концу первых суток, в более высоких концентрациях на вторые сутки (рис. 1). Хотя развитие бактерий в растворах с тринитротолуолом тормозилось, но максимальные числа бактерий в этих концентрациях были несколько выше, чем в контроле. Это, повидимому, объясняется получением дополнительного источника питания за счет тринитротолуола. Отмирание бактерий шло быстрее в тех концентрациях, где они быстрее развивались.

Угнетающее влияние тринитротолуола для бесцветных жгутиковых и инфузорий проявляется в течение первых суток, затем оно постепенно ликвидируется и на третьи сутки отмечается лишь в исходной концентрации (25 мг/л), где массовое развитие жгутиковых наступает на четвертые сутки, а инфузорий — на шестые сутки (табл. 2 и 3). Доминирую-

Таблица 2

Развитие бесцветных жгутиковых в растворах с различным содержанием тринитротолуола

Время от начала опыта	Количество организмов в 1 мл						
	при исходной концентрации тринитротолуола в мг/л						Контрольная проба
	0,5	1,0	5,0	10,0	15,0	25,0	0
15 минут	4	4	20	1	1	1	4
1 сутки	270	120	40	40	20	20	340
2 суток	106	28	11	13	17	20	115
3 „	670	380	400	910	750	10	480
4 „	1080	920	360	340	1110	1780	5730
6 „	340	210	100	170	150	440	660
7 „	170	170	10	40	110	0	180
8 „	40	20	10	10	0	0	0

Таблица 3

Развитие инфузорий в растворах с различным содержанием тринитротолуола

Время от начала опыта	Количество организмов в 1 мл						
	при исходной концентрации тринитротолуола в мг/л						Контрольная проба
	0,5	1,0	5,0	10,0	15,0	25,0	0
15 минут	1	1	1	0	0	0	1
1 сутки	50	20	30	0	0	0	40
2 суток	400	350	350	381	22	14	375
3 „	520	500	680	430	750	14	1680
4 „	1370	2170	940	510	380	14	1990
6 „	160	210	10	10	500	520	230
7 „	160	50	20	10	510	45	100
8 „	50	20	30	20	1050	140	50

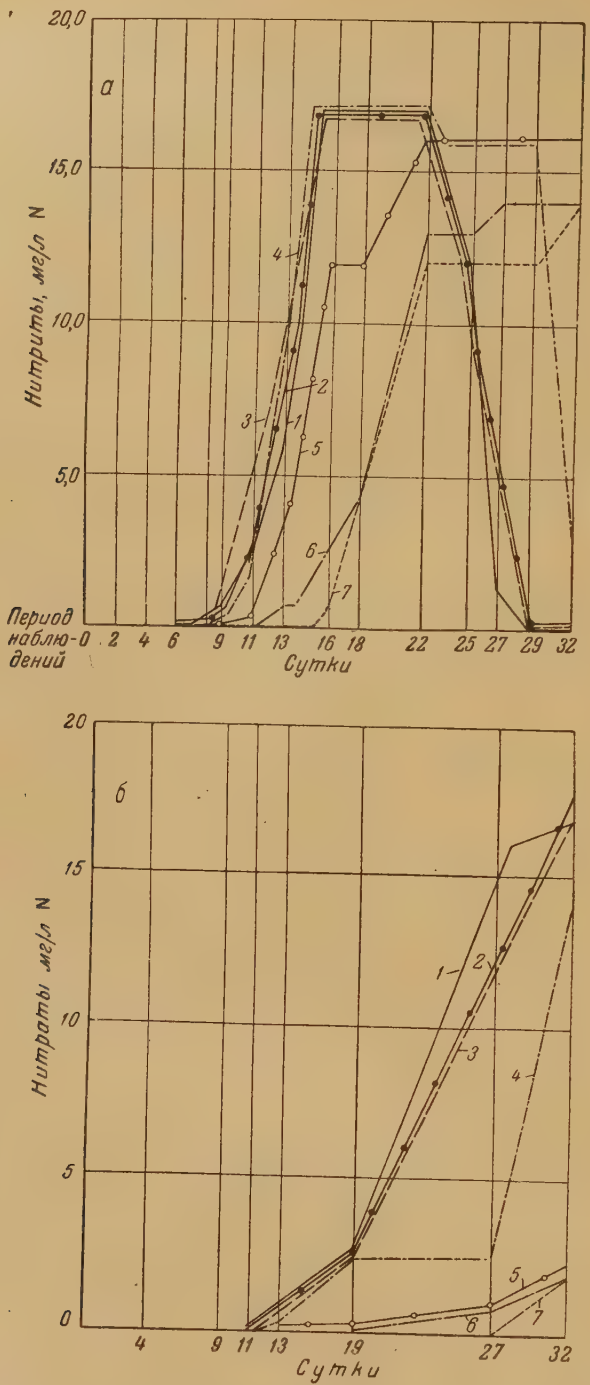


Рис. 2. Влияние тринитротолуола на нитрификацию

а — изменение содержания нитритов; б — изменение содержания нитратов *1* — контроль; *2* — 0,5; *3* — 1,0; *4* — 5,0; *5* — 10,0; *6* — 15,0; 7 — 2 5,0 мг/л ТНТ.

щей формой во всех растворах являлась Vorticella microstoma, более чувствительными формами оказались: Cyclidium glaucoma и Glaucoma pyriformis, развивавшиеся в незначительных количествах в растворах с исходными концентрациями до 5 мг/л тринитротолуола.

Наблюдения за ходом процесса минерализации органического вещества показали, что в растворах с исходным содержанием тринитротолуола до 5 мг/л скорость процесса была такой же, как в контроле. С увеличением концентрации интенсивность процесса замедляется; на третьи сутки снижение количества органического вещества в растворах при исходной концентрации тринитротолуола 10—15 мг/л составляло 54% при 25 мг/л — 13% от контроля.

Процессы нитрификации идут с различной интенсивностью. В растворах с исходными концентрациями до 5 мг/л тринитротолуол не влияет на скорость процесса, с увеличением концентрации наблюдается замедление процесса.

Во второй фазе процесса (образование нитратов) угнетающее действие проявляется более резко (рис. 2).

Изменения активной реакции среды (pH) по ходу опыта представлены в табл. 4.

Таблица 4

Изменение активной реакции фекально-хозяйственной жидкости с добавлением тринитротолуола по ходу опыта

Время от начала опыта	Активная реакция (pH) при исходной концентрации ТНТ в мг/л						Контрольная проба
	0,5	1,0	5,0	10,0	15,0	25	0
15 минут	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4
1 сутки	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4
3 суток	8,2	8,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,2
5 „	8,2	8,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,2
10 „	8,2	8,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,2
13 „	7,6	7,6	7,6	8,4	8,4	8,65	7,7
14 „	7,4	7,4	7,4	8,2	8,4	8,5	7,4
15 „	7,2	7,2	7,2	7,6	8,5	8,5	7,2

При изучении вопроса о применимости биологических методов очистки к сточным водам, содержащим токсические вещества, важно знать влияние токсического вещества на биохимическое потребление кислорода фекально-хозяйственной жидкостью. Для решения этого вопроса были поставлены опыты со следующими концентрациями тринитротолуола: 0,5; 1; 3; 5; 10 мг/л. Наблюдения за потреблением кислорода велись в течение двух суток с интервалами между отдельными определениями в несколько часов.

Результаты опытов, представленные на рис. 3, показывают, что наблюдающееся незначительное замедление процесса поглощения кислорода при концентрации 0,5—1,0 мг/л тринитротолуола заканчивается к концу первых суток. С увеличением концентрации депрессирующее влияние тринитротолуола усиливается и проявляется в течение более продолжительного периода.

Высказанное Рёчофом (3) предположение, что тринитротолуол не окисляется биохимически, вызвало у нас некоторое сомнение, так как исследованиями многих авторов была доказана возможность распада ряда ароматических углеводородов, как, например, толуола, бензола,

ксилола и других стойких в химическом отношении веществ, под влиянием микроорганизмов.

Для освещения этого вопроса нами были поставлены опыты в стерильных и нестерильных условиях с фекально-хозяйственной сточной жидкостью и с минеральным раствором (для устранения влияния органических взвешенных веществ). Сточная вода и минеральный раствор стерилизовались в аппарате Коха трехкратно, а затем вводился тринитротолуол.

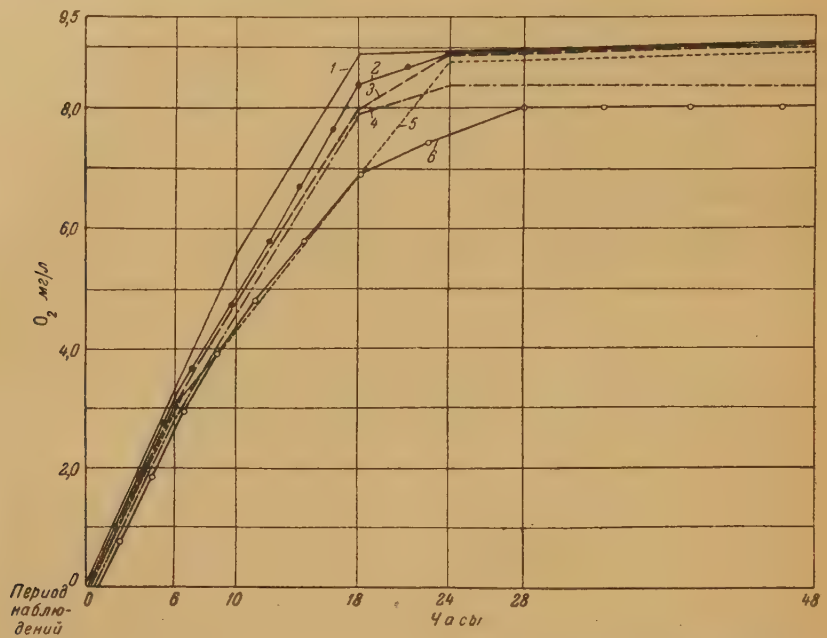


Рис. 3. Влияние тринитротолуола на биохимическое потребление кислорода фекальной жидкостью.

1 — контроль; *2*—0,5; *3*—1; *4*—5; *5*—3; *6*—10 мг/л ТНТ

Стерильность растворов проверялась посевом на мясо-пептонный агар. Инокуляция нестерильных растворов производилась введением 1 мл фекально-хозяйственной жидкости на 500 мл раствора. Тринитротолуол вводился из расчета 5 мг/л. Через различные периоды времени определялось содержание тринитротолуола в растворе.

Результаты наблюдений, представленные в табл. 5, показывают, что распад тринитротолуола происходит в результате жизнедеятельности бактерий.

В отношении пути, по которому идет процесс распада тринитротолуола, у нас наблюдений нет, но можно предположить, что сначала происходит отщепление нитрогруппы и использование азота, а затем окисление толуола и использование его в качестве источника углерода.

Нами были проведены некоторые наблюдения за размножением бактерий в жидких и твердых средах, где тринитротолуол давался в качестве источника углеродистого питания в одном случае и азотистого в другом.

Методика опыта сводилась к следующему:

Приготовленная на дестиллированной воде питательная среда, содержащая KH_2PO_4 — 0,025%, K_2HPO_4 — 0,05%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,02%, $FeSO_4$ и NaCl — следы, разделялась на две порции. В одной — тринитротолуол служил источником азота, в качестве источника углерода до-

Таблица 5

Выяснение природы распада тринитротолуола

Наименование раствора	Исходная концентрация ТНТ в мг/л	Остаточное количество ТНТ в мг/л			
		время от начала опыта			
		5 минут	14 суток	24 суток	
Сточная вода (образец 1)					
Стерильная	4,78	3,6	—	3,6	
Нестерильная	4,78	4,0	—	0	
Сточная вода (образец 2)					
Стерильная	5,0	2,35	2,35	—	
Нестерильная	5,0	2,3	0	—	
Минеральный раствор					
Стерильный	4,5	4,5	—	4,4	
Нестерильный	4,5	4,5	—	0	

бавлялась глюкоза — 0,1%, в другой — тринитротолуол являлся источником углерода, а азотистое питание давалось в виде азотнокислого аммония — 0,1%. Питательные среды заражались одной каплей культуры бактерий, полученной посевом бытовой сточной жидкости на мясопептонный агар с тринитротолуолом и повторным пересевом на минеральный агар с тринитротолуолом. В каждую колбу добавлялся тринитротолуол из расчета 5 мг/л, pH среды = 7,2. Колбы выдерживались в термостате при 20—22°. Результаты опытов, представленные в табл. 6, показывают, что развитие бактерий идет более интенсивно в средах, где тринитротолуол является источником азота. Для выращивания бактерий на твердом субстрате к питательной среде добавлялся агар-агар, смесь стерилизовалась и затем разливалась в чашки Петри. На застывшую поверхность наливался пересыщенный раствор тринитротолуола. После подсушивания в термостате тринитротолуол распределялся по всей поверхности среды в виде кристаллов. Чашка делилась на секторы, и на каждый сектор штрихом наносилась односуточная культура B. coli, B. prodigiosum и B. fluorescens, выращенная на агаре с добавлением тринитротолуола. Заметное развитие бактерий наблюдалось на чашках, где тринитротолуол давался как источник азота; на чашках, где тринитротолуол давался как источник углерода, развитие бактерий было значительно слабее. В районах штриха кристаллы тринитротолуола не обнаруживались.

Таблица 6

Развитие бактерий на синтетической среде с добавлением тринитротолуола

(число колоний в 1 мл среды)

Сроки наблюдения в сутках	ТНТ — источник азота	ТНТ — источник углерода
При постановке опыта	21 000	21 500
2	975 000	959 000
4	15 810 000	2 200 000
6	8 365 000	1 205 000
8	3 800 000	770 000
11	1 550 000	577 000
13	5 570 000	604 000
15	10 920 000	7 666 000

Выводы

1. Тринитротолуол может разрушаться в результате биохимических процессов.

2. Разрушение тринитротолуола возможно лишь в тех случаях когда он находится в растворах в слабых концентрациях.

3. Тринитротолуол используется микроорганизмами в качестве источника питания.

4. Тринитротолуол в концентрациях порядка 0,5—1,0 мг/л оказывает незначительное тормозящее действие на биохимические процессы самоочищения воды; это торможение усиливается с увеличением его концентрации.

5. В первый момент контакта тринитротолуола с хозяйственной бытовой сточной водой происходит снижение его концентрации в результате физико-химических процессов, в дальнейшем идет биохимическое разрушение.

6. Предельным количеством тринитротолуола, допустимым для сброса в водоем без существенного ущерба для биохимических процессов самоочищения воды, является содержание тринитротолуола в целом потоке или части его, в зависимости от струйности, не более 1 мг/л.

7. При совместной очистке с бытовыми сточными водами концентрация тринитротолуола может быть увеличена до 10 мг/л.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
«ВОДГЕО»
Москва

Получено 28. II. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калабина М. М. Метод определения токсичности промышленных сточных вод и их отдельных компонентов. Гигиена и санитария, № 4—5, 1945.
2. Ruchoff C. C., Le Bosquet M. and Melkler W. G. The wastes from shell-loading plants. Ind. Eng. Chem., 37, No 10, 1945.

ПРИМЕНЕНИЕ ENDOMYCES MAGNUSII ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА B_1 ПУТЕМ БРОЖЕНИЯ

Е. Н. Одинцова, М. Н. Мейсель и А. А. Гусева

За последние годы работами, выполненными в Институте микробиологии АН СССР, было выяснено значение витамина B_1 в формировании бродильной функции дрожжеподобного организма Endomyces magnusii. Проведенные исследования указали на возможное использование как показателя размножения клеток, так в равной мере и бродильной реакции данного организма при суждении о биологическом действии витамина B_1 (Мейсель [1, 2]; Одинцова, [5]; Одинцова и Мейсель [6]). Активирующее действие на бродильную функцию End. magnusii в широком смысле, т. е. на самый процесс брожения и сопряженную с ним цитологическую «бродильную» перестройку клеток, оказывали не только витамин B_1 и кокарбоксилаза, но также и часть молекулы витамина B_1 — витаминный тиазол. Высокая чувствительность к витамину B_1 и его пирофосфорному эфиру побудила использовать бродильную реакцию End. magnusii для количественного определения этих веществ.

При исследовании витамина B_1 было выявлено большое количество весьма разнообразных индикаторных на этот витамин организмов и разработаны самые различные микробиологические методы его определения. Их можно разбить на две группы. Одни, в подавляющем своем большинстве, основаны на учете интенсивности размножения микроорганизмов. О содержании витамина B_1 в этом случае судят по корреляции между количествами его (в известных пределах) в среде и массой нарастающей культуры. Менее многочисленны методы, в которых использованы или бродильная реакция организмов на витамин B_1, или его ко-карбоксилазное действие при расщеплении пировиноградной кислоты.

Одним из наиболее существенных требований, предъявляемых к микробиологическим методам определения витаминов и подобных им веществ, является быстрота получаемого ответа. Этому требованию менее всего удовлетворяет, например, известный метод Шопфера (Schopfer, [15, 16, 17]) с использованием Phycomyces. Несмотря на весьма высокую чувствительность данного организма к витамину B_1, длительность развития гриба — 10 дней — оказалась серьезным препятствием к его широкому использованию. В последнее время возникли сомнения и в специфичности реакции этого организма. Перспективные бактериальные методы — метод Веста и Вильсона (West a. Wilson [22]) и затем метод Нивена и Смилли (Niven a. Smilley [14]) требуют значительно меньшей продолжительности размножения тест-культур Staphylococcus aureus и Streptococcus salivarius (штамм 20), всего 36 часов. Дрожжевой метод Вильямса, Мак Магана и Эйкина (Williams, McMahan, Eakin [23]) отличается наиболее коротким сроком проведения определения: предложенная авторами культура дрожжей Saccharomyces cerevisiae «Old Process» размножается в течение 24 часов.

С этой точки зрения особого внимания заслуживают «бродильные» методы определения витамина B_1, хотя они и представлены в крайне ограниченном числе. Определение витамина B_1 методом брожения требует всего два-три часа.

К данной группе методов могут быть отнесены метод Маркузе, Виде и Спербера, метод Сильвермана и Веркмана и метод Шульца, Аткина и Фрея[1].

Маркузе, Виде и Спербер (Marcuse, Widhe, Sperber [13]) остроумно использовали способность дрожжевых организмов аккумулировать из окружающей среды витамин B_1. С помощью биологического адсорбента подобного типа возможно извлекать таким способом довольно большие количества этого витамина. Весь процесс осуществляется за период времени в два-три часа. Аккумулированный в клетках витамин B_1 определяют затем тиохромным методом.

Метод Маркузе, Виде и Спербера применим и относительно точен лишь при наличии больших количеств определяемого витамина B_1 в среде.

[1] Методы определения витамина B_1 более подробно описаны в обзорной статье Одинцовой [7].

Сильверман и Веркман (Silverman a. Werkman [21]), работая с пропионовокислыми бактериями, обнаружили способность их фосфорилировать витамин B_1. Пользуясь этим их свойством, авторы попытались разработать метод его количественного определения. Так как витамин B_1 подвергался фосфорилированию живыми бактериальными клетками, то принцип метода сводился к определению фосфорилированного витамина B_1, т. е. ко-карбоксилазы при расщеплении ею в кратковременных опытах брожения пировиноградной кислоты. По интенсивности выделения CO_2 судят о количестве ко-карбоксилазы и, следовательно, витамина B_1. Этим путем представлялось возможным определить ничтожно малые количества витамина B_1.

Данный метод, абсолютно безупречный по специфичности реакции, не смог однако, получить практического применения. Лимитирующим здесь оказалось то обстоятельство, что присутствующий свободный витамин B_1 угнетает действие ко-карбоксилазы (метод критически разобран в статье Deutsch [10]).

Пользующийся известностью «бродильный» метод Шульца, Аткина и Фрея (Schultz, Atkin a. Frey [18, 19, 20]) основан на ускорении в присутствии витамина B_1 брожения, вызываемого продажными прессованными дрожжами Fleishmann baker's yeast или Saccharomyces cerevisiae XII расой. При этом активирующий эффект достигает 200%. По указаниям авторов аналогичным действием обладал не только витамин B_1, но в равной мере и часть молекулы его — витаминный пиримидин. Поэтому содержание витамина B_1, согласно методу, определяется на основании разности пиримидинового действия до и после разрушения витамина B_1, Шульц, Аткин и Фрей, а также ряд других авторов (Johsephson a. Harris [11], Laser [12]) обратили особое внимание на способ разрушения витамина B_1.

В методике Шульца, Аткина и Фрея остается неясной микробиологическая сторона. Каким образом могли предложенные ими индикаторные культуры реагировать на витамин B_1 или пиримидин, если они способны в полной мере его синтезировать? Как известно, подавляющее большинство сахаромицетов и в том числе формы, предложенные авторами, являются хорошими синтетиками витамина B_1. В силу этого они хорошо развиваются на синтетических средах в отсутствие витамина B_1, если в среду добавлены прочие необходимые витамины.

Такова краткая характеристика существующих «бродильных» методов количественного определения витамина B_1.

Характеристика бродильной реакции Endomyces magnusii на витамин B_1

Endomyces magnusii, будучи полностью неспособным к синтезу витамина B_1 и в значительной мере к синтезу биотина, совершенно не развивается на средах, лишенных этих веществ (Мейсель [2], Мейсель, Трофимова, Лисовская [31]). Его основным и существенно необходимым требованием для роста является витамин B_1. Воспроизводя синтез пиримидина, он может развиваться, если в среде вместо витамина B_1 имеется часть молекулы его — витаминный тиазол.

Исключительно ценным свойством End. magnusii как индикаторного организма на витамин B_1 следует считать его почти полную неспособность вызывать брожение, если клетки предварительно, естественным путем, обеднены им. Такую культуру легко получить, размножая End. magnusii в течение 48 часов на среде, содержащей ничтожно малое количество витамина B_1. Эта культура отличается, как выяснилось, не только слабым развитием, но и почти полной неспособностью вызывать брожение. Если ее поместить затем в условия кратковременного брожения, где размножение клеток исключено, то добавляемый витамин B_1 оказывает резко стимулирующее действие. Активирующий эффект наблюдается уже при внесении на 1 мл бродящей суспензии 0,1 γ витамина B_1 (или эквимолекулярного количества тиазола) [2]. При добавлении 0,5 γ на тот же объем активирующее действие достигает максимума (табл. 1). Энергия брожения при этом повышается на 500 и даже 600%.

Пользуясь более чувствительным прибором — прибором Варбурга, представляется возможным значительно повысить чувствительность метода. Так, Смирнов и Дыкман [8] при определении содержания витамина B_1 данным методом в приборе Варбурга наблюдали эффект уже при внесении 0,001 γ витамина B_1 на 1 мл среды.

[2] При определении брожения в приборе для газообмена Одинцовой.

Таблица 1

Активирующее действие различных доз витамина B_1 на брожение Endomyces magnusii

Среда для брожения	Количество добавл. витамина B_1 в μг на 1 мл бродящего раствора	Количество выделившегося CO_2 в мл на 5 мл бродящего раствора за 60 мин.	120 мин.	180 мин.
Сахаро-фосфатная	—	0,4	0,7	1,0
»	—	0,4	0,8	1,1
Сахаро-фосфатная + витамин B_1	0,1	0,8	2,2	3,5
То же	0,1	0,8	2,1	3,4
» »	0,2	0,9	2,5	4,3
» »	0,2	0,9	2,5	4,1
» »	0,3	1,0	2,9	5,5
» »	0,3	1,1	2,9	5,6
» »	0,4	1,2	3,4	5,5
» »	0,4	1,2	3,5	6,2
» »	0,5	1,4	3,5	6,9
» »	0,5	1,3	3,8	6,9
» »	0,7	1,3	3,9	5,9
» »	0,7	1,3	3,9	6,3

Высокая степень активирования витамином B_1 бродильной функции End. magnusii делает эту реакцию особо перспективной для количественных определений. При столь активном брожении в присутствии витамина B_1 возможно и незначительное активирование (порядка 10%), вызываемое некоторыми неспецифическими веществами (Одинцова [4], Deutsch [10] и другие), в том числе сернокислым аммонием, не имеет существенного значения. Однако подобного рода побочное активирование на фоне незначительного активирования малыми дозами витамина B_1 все же может исказить результат. Поэтому точнее, при определении витамина B_1, в естественных субстратах, проводить его таким способом, чтобы концентрация витамина B_1 в бродящей жидкости была близка к предельной, т. е. к 0,5 μг в 1 мл.

Проведенные испытания показали возможность применения для количественного определения витамина B_1 также и высушенной культуры End. magnusii. Такая культура, будучи приготовлена в массовом масштабе, по стандартному методу, могла бы быть затем легко транспортирована и широко использована для определения витамина B_1. Самый процесс высушивания должен производиться крайне осторожно и возможно быстро, при температуре не свыше 30°.

При использовании сушеных дрожжей, их необходимо выдержать предварительно в фосфатном буферном растворе не менее трех часов. В этом случае удобно взять 2% сушеных дрожжей в фосфатном буферном растворе (концентрации $^1/_{10}$ моля). Эту суспензию затем можно непосредственно перенести в боковую ампулу бродильной колбочки (в требуемом количестве). В конечном итоге, при смешении с равным объемом сахарного раствора, создадутся требуемые концентрации фосфатного буфера и дрожжей.

Удаление тиазола

Так как Endomyces magnusii является «тиазоловым» организмом и реагирует брожением не только на витамин B_1, но в равной мере и на его компонент — тиазол (4-метил-5-β-гидрооксиэтилтиазол), последний

при количественном определении витамина должен быть предварительно удален. Довольно простым и удобным способом удаления тиазола из естественного субстрата является обработка его хлороформом [3]. Испытуемый субстрат встряхивается в течение пяти минут с хлороформом, водная фракция отделяется на делительной воронке. Из нее, путем нагревания, удаляется остаточный хлороформ. Испытания при брожении (табл. 2) показали полную пригодность этого простого метода для удаления тиазола из водных экстрактов.

Таблица 2

Условия брожения	Объем бродящей жидкости в мл	Колич. прессованных дрожжей в %	Выделялось CO_2 в мл за		
			60 мин.	120 мин.	180 мин.
Сахаро-фосфатная среда	5	4	0,6	1,1	1,2
То же + 0,2 тиазола на 1 мл брод. раствора . . .	5	4	1,6	3,5	5,3
Сахаро-фосф. среда + тот же раствор тиазола после обработки его хлороформом	5	4	0,6	1,1	1,4

Получение чувствительной к витамину B_1 культуры

Как известно, условия предшествующего культивирования оказывают существенное влияние на морфологическое и функциональное состояние микроорганизмов.

Основным условием для получения высокочувствительной к витамину B_1 культуры End. magnusii является размножение ее в аэробных условиях на среде, значительно обедненной витамином B_1. Такая культура отличается не только резко сниженной бродильной активностью, но и морфологическими особенностями. Клетки ее, сильно обедненные плазмой, с одной большой вакуолью или несколькими малыми — в большинстве случаев вытянутые. В них обычно отсутствует гликоген и в сколько-нибудь значительном количестве жир. Количество мертвых клеток в культуре не должно превышать 10%. Наличие большого числа их указывает на плохое физиологическое состояние, и такая культура мало пригодна для работы.

Для проведения количественных определений витамина B_1 End. magnusii размножается в течение двух суток на агаровой минеральной среде Ридера [4] с 2% глюкозы или сахарозы, на чашках Петри. Вполне возможно применить продажный сахарный песок или рафинад. В таком случае его нужно предварительно обработать норитом или активированным углем. Присутствующий в агар-агаре витамин B_1 удаляется промыванием агар-агара в проточной воде в течение четырех дней. Среда готовится на простерилизованной предварительно при одной атмосфере и слитой с осадка водопроводной воде (во избежание избытка кальциевых солей).

Минеральный состав среды следующий: на 1 л берется сернокислого аммония — 3 г, сернокислого магния — 0,7 г, однозамещенного фосфорно-

[3] Для сохранения того же объема обрабатываемого раствора хлороформ предварительно насыщается водой.

[4] В случае избыточного содержания в водопроводной воде кальциевых солей фосфаты, растворенные в небольшом количестве дестиллированной воды, стерилизуются отдельно и вносятся в среду после ее стерилизации и охлаждения. Азотнокислый кальций следует исключить.

кислого калия — 1 г, двузамещенного фосфорнокислого калия — 1,0 г, хлористого натрия — 0,5 г, азотнокислого кальция — 0,4 г.

В среду дополнительно вносится 0,1% дрожжевого экстракта в качестве естественного источника некоторого количества витамина B_1 и биотина. Дрожжевой экстракт удобнее готовить не из пивных дрожжей, богатых витамином B_1, а из прессованных хлебопекарных. Количество витамина B_1, содержащегося в последних, очень невелико (имеется в виду, что будет использован 10% экстракт, т. е. при его приготовлении на 100 мл воды будет взято 10 г сушеных или 40 г свежих отпрессованных дрожжей).

На такой, весьма бедной витамином B_1, среде культура развивается слабо, и, чтобы повысить урожай, необходим довольно большой засев. На пять обычных чашек Петри берется густая суспензия на водопроводной воде, смытая с одной пробирки двухсуточной культуры End. magnusii на 7° Балг. пивном сусло-агаре.

При соблюдении точных условий культивирования, последующее брожение в контроле и степень активирования оказываются весьма стандартными.

Краткое описание метода

Двухсуточная культура Endomyces magnusii смывается с поверхности твердой среды с помощью стеклянного шпателя небольшим количеством водопроводной (предварительно простерилизованной или прокипяченной) воды. Полученная водная суспензия отсасывается на воронке Бухнера, два-три раза промывается небольшими порциями той же водопроводной воды и снимается с фильтра. Собранная культура допрессовывается между листиками фильтровальной бумаги. Дрожжи не должны быть сильно отжаты и крошиться во избежание пересыхания культуры. При приготовлении суспензии взятое по весу количество отпрессованных дрожжей осторожно растирают в ступке с частью отмеренного фосфатного буферного раствора, постепенно добавляя остальное его количество. Такая тщательность в приготовлении суспензии требуется для получения гомогенной взвеси клеток. В противном случае могут наблюдаться большие расхождения между параллельными сосудиками при брожении.

Брожение проводится в микробродильном приборе Варбурга или ином газометрическом приборе точной конструкции. В наших работах для кратковременных опытов брожения был использован микробродильный прибор Одинцовой. Методика постановки опытов — обычная для приборов типа Варбурга.

Рекомендуемые условия брожения следующие: 4%-ный сахарный раствор, 4%-ная суспензия дрожжей (считая на прессованные), концентрация фосфатного буфера — $^1/_{20}$ моля, pH его равен 5,5 (буфер по Михаелису). Температура брожения — 30°, продолжительность брожения 3 часа. В данных опытах общий объем бродящей жидкости в колбочке для брожения составлял 5 мл. Отсчеты объемов выделяющейся углекислоты производились каждые 40—60 минут. При указанных условиях брожения размножения клеток не происходит. К сахаро-фосфатной среде по общему фону добавляется никотиновая кислота (1 γ на 1 мл бродящей суспензии), так как, согласно наблюдениям Шульца, Аткина и Фрея, она оказывает некоторое активирующее действие на брожение.

Выводы

1. Endomyces magnusii является удобным индикаторным организмом для количественного определения витамина B_1, витаминного тиазола и ко-карбоксилазы с помощью бродильного метода.

2. При проведении кратковременных опытов брожения на сахаро-

фосфатной среде в приборе Одинцовой (по методике Варбурга) активирующий эффект витамина B_1 сказывается уже при концентрации его 0,1 γ на 1 мл бродящего раствора и достигает максимума при концентрации 0,5 γ на 1 мл бродящего раствора.

3. Для удаления тиазола может быть применена экстракция хлороформом (путем встряхивания с ним испытуемого раствора в течение 5 минут) с последующим отделением хлороформа.

В статье даются методические указания для практического использования нового индикаторного организма.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 27. II. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мейсель М. Морфологические и физиологические изменения клетки под влиянием витамина B_1. ДАН СССР, XXIX, № 2, стр. 127, 1940.
2. Мейсель М. Влияние витамина B_1 на строение и некоторые функции Endomyces magnusii. Микробиология, X, 649, 1941.
3. Мейсель М., Трофимова Н., Лисовская Н. Ростовые вещества и их влияние на строение и жизнедеятельность дрожжевых организмов. Микробиология, XIV, 191, 1945.
4. Одинцова Е. Активаторы спиртового брожения. Микробиология, VIII, 455, 1939.
5. Одинцова Е. Влияние витамина B_1 на бродильную функцию микроорганизмов. Микробиология, X, 670, 1941.
6. Одинцова Е. и Мейсель М. Дрожжеподобный грибок Endomyces magnusii как биологический индикатор на витамин B_1. Реф. АН СССР, Отд. биол. наук, 1941, 1943.
7. Одинцова Е. Н. Микроорганизмы как биологические индикаторы на витамины. Успехи совр. биологии, XXVII, № 1, 1949.
8. Смирнов Г. Д. и Дыкман Л. М. Содержание тиамина в нервной системе карповых рыб. ДАН СССР, LXIX, № 3, стр. 477, 1949.
9. Atkin L., Schultz A., Frey Ch. Ultramicrodetermination of thiamine by the fermentation method. J. Biol. Chem., **129**, No. 2, p. 471, 1939.
10. Deutsch H. The stimulatory effect of thiamine and certain of its derivatives on the assay of vitamin B_1 by yeast fermentation. J. Biol. Chem., **152**, No. 2, p. 431, 1944.
11. Josephson E. a. Harris R. XX A modified micro-germentation method for the estimation of thiamine. Ind. Eng. Chem. (Anal. ed.), **14**, 755, 1942.
12. Laser H. The effect of thiamine (vitamin B_1) on fermentation of yeast. Bioch. J., **35**, No. 4, p. 488, 1941.
13. Marcuse R., Widhe T. a. Sperber E. Determination of aneurin by the thiochrome method after its uptake by yeast. Nature, **154**, No. 3913, p. 549, 1944.
14. Niven Ch., Smilley K. A. Microbiological assay method for thiamine. J. Biol. Chem., **150**, No. 1, p. I, 1943.
15. Schopfer W. Un test végétal pour la vitamine B_1. Z. Vitaminforsch., **4**, H. I, S. 67, 1935.
16. Schopfer W. Recherches sur l'emploi possible d'un test végétal pour la vitamine B_1. Essai d'étalonnage. Bull. Soc. Chim. Biol., XVII, No. 7—8, p. 1097, 1935.
17. Schopfer W. Plants and vitamins. Waltham, Mass., U. S. A., 1943.
18. Schultz A., Atkin L. a. Frey Ch. A fermentation test for vitamin B_1, I. J. Am. Chem. Soc., **59**, No. 4, p. 948, 1937.
19. Schultz A., Atkin L., Frey Ch. A fermentation test for vitamine B_1. II. J. Am. Chem. Soc., **59**, No. 10, p. 2457, 1937.
20. Schultz A., Atkin L. a. Frey G. Determination of vitamine B_1 by the yeast fermentation method. Improvements related to use of sulfite cleavage and a new fermentometer. Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.), **14**, 35, 1942.
21. Silverman M. a. Werkman C. Adaptation of the propionic acid bacteria to vitamin B_1 synthesis including a method of assay. J. Bact., 38, 25, 1939.
22. West P. a. Wilson P. Biological determination of vitamin B_1 (thiamine) in Rhizobium trifolii. Sci., 88, No. 2284, p. 334, 1938.
23. Williams R., McMagan J. a. Eakin R. Assay method for thiamin. Univ. Tex. Publ., 1941, 1942

КЛУБЕНЬКОВЫЕ БАКТЕРИИ И ОБРАЗОВАНИЕ ПРОЧНОЙ СТРУКТУРЫ ПОЧВЫ

К. И. Рудаков и *М. Р. Биркель*

В процессе нашей работы над путями образования активного перегноя — фактора, придающего прочность почвенным макроагрегатам, созданным корневыми системами травосмесей, мы обратили внимание на следующие обстоятельства.

1. При анализе корневых систем клевера после очень тщательной их отмывки от приставших частиц почвы всегда обнаруживается очень большое число клубеньковых бактерий. Они обнаруживаются не только при анализе растертых корней клевера, но и при анализе водных смывов отмытых корней и при анализе почвы ризосферы клевера (Красильников, [3]).

. При изучении микрофлоры корневых систем и почв травопольного севооборота (исследования нашего аспиранта Ламбиной) показано, что максимальное количество протопектиназных бактерий обнаруживается на полях, занятых травосмесью (клевер — тимофеевка).

Из сопоставления этих данных явилась мысль, что, если протопектиназные бактерии, разлагая межклеточные вещества корней клевера, освобождают галактуроновую кислоту, то клубеньковые бактерии, поглощая последнюю, внутриклеточно осуществляют синтез активного перегноя, освобождая в процессе автолиза уронопротеидные комплексы.

Это предположение тем более вероятно, что галактуроновая кислота (Hopkins, Peterson и Fred [7] еще в 1931 г. была обнаружена в клетках клубеньковых бактерий. Их результаты полностью подтверждены нашими анализами.

Образование клубеньковыми бактериями активного перегноя, склеивающего и цементирующего почвенные микроагрегаты, легко было доказано Биркель следующим простым способом. Измельченные корни клевера были залиты водой и после стерилизации инфицированы протопектиназными бактериями (Bac. polymyxa 7070 и Bac. polymyxa 8523); через 10 дней к отжатой от корней жидкости было добавлено некоторое количество культуры Rhizobim trifolii. Культура подвергнута автолизу при 50°, и полученный автолизат добавлен к бесструктурной почве. Смоченная почва гранулирована, подсушена, и полученные гранулы подвергнуты агрегатному анализу. Результаты сведены в табл. 1.

Этот опыт повторен в различных вариантах.

Таблица 1

Результаты агрегатного анализа почвенных гранул
(Обработка Rh. trifolii)

Вариант	% водопрочных агрегатов (0,2—0,5)
Контроль (почва увлажнена водой)	0
Почва увлажнена жидкостью, отжатой от клевера после обработки протопектиназными бактериями . .	0
Почва увлажнена автолизатом культуры клубеньковых бактерий в жидкости, отжатой из мацерированного клевера	90

После получения этих данных мы поставили вопрос: не могут ли сами клубеньковые бактерии вне зависимости от поступления галактуроновой кислоты, образующейся при действии протопектиназных бактерий на межклеточное вещество клевера, образовывать активный перегной и, таким образом, склеивать и цементировать почвенные агрегаты.

С этой целью клубеньковые бактерии клевера (№ 69) были размножены на бобовом агаре в чашках Петри с добавлением вместо сахарозы галактозы; к снятой с чашек слизистой массе бактерий добавлен равный объем воды и клубеньковые бактерии подвергнуты суточному автолизу при 50°. Полученным таким путем бактериальным автолизатом смочена почва (Юрьев-Польского опорного пункта Московского отделения Всесоюзного института сельскохозяйственной микробиологии), приготовлены гранулы 0,2—0,4 см диаметром и после высушивания подвергнуты агрегатному анализу. Контролем служили гранулы, изготовленные на почве, увлажненной водой. Средние данные приводим в табл. 2.

Таблица 2

Результаты агрегатного анализа почвенных гранул

(Обработка Rh. trifolii на галактозе)

Вариант опыта	% водопрочных агрегатов
Почва + вода . . .	0
Почва + автолизат клубеньковых бактерий	42

Часть гранул перед анализом подвергнута следующим дополнительным обработкам: 1) двукратная обработка $Ca(NO_3)_2$ с промежуточным подсушиванием; 2) промораживание при температуре 0—20° в течение 10 суток.

Результаты агрегатного анализа этих гранул представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты агрегатного анализа почвенных гранул

(Обработка Rh. trifolii на галактозе + обработка $Ca(NO_3)_2$ или промораживание)

Вариант опыта	% водопрочных агрегатов
Почва + автолизат клубеньковых бактерий + $Ca(NO_3)_2$	46
Почва + автолизат клубеньковых бактерий, проморожена 10 суток	95

Действие $Ca(NO_3)_2$ оказалось незначительным. Это объясняется тем, что почва Юрьев-Польского опытного пункта содержит достаточно солей Са. Промораживание же, как и следует по Вильямсу, почти удвоило водопрочность.

Одновременно клубеньковые бактерии, выращенные на галактозе, были анализированы на содержание галактуроновой кислоты (по Толленсу). Результаты приводим в табл. 4.

Таким образом, эти опыты показывают, что клубеньковые бактерии сами по себе, без участия корней клевера, могут синтезировать активный перегной. Однако роль бобового компонента травосмеси этим нисколько не умаляется. Клубеньковые бактерии развиваются ведь только на травяном поле за счет бобового его компонента или на поле, занятой чистым посевом бобового. Правда, есть указания (Красильни-

ков [2]; Финкельштейн [6] и др.) на то, что клубеньковые бактерии встречаются в довольно значительном количестве и под некоторыми другими растениями, например под хлопчатником. Однако накопление клубеньковых бактерий, как показал Финкельштейн, происходит лишь начиная с момента подсева бобовых к зерновым. На прочих полях севооборота идет постепенное падение их числа. Значительное количество клубеньковых имеется лишь на поле, следующем за травяным полем, поскольку там происходит разложение корней бобовых. Красильников [4] показал также, что клубеньковые бактерии прекрасно развиваются на мертвых остатках бобовых. Этим, вероятно, объясняется и присутствие значительного количества клубеньковых бактерий под хлопчатником: хлопчатнику, как правило, предшествует люцерна.

Роль бобовых сводится, таким образом, к тому, что их корневые системы способствуют развитию клубеньковых бактерий, обеспечивая их питание (прежде развитие клубеньковых и «привлечение» их к корням бобовых объясняли специфическими хемотоксическими выделениями бобовых).

Таблица 4

Содержание галактуроновой кислоты в 1 г микробной массы клубеньковых бактерий

Вариант анализа	Содержание галактуроновой кислоты в мг на 1 г
Контроль	0
Клубеньковые бактерии (на галактозе)	53,2

Таблица 5

Содержание галактуроновой кислоты в 1 г микробной массы клубеньковых бактерий

Вариант анализа	Содержание галактуроновой кислоты в мг на 1 г
Контроль	0
Клубеньковые бактерии (на глюкозе)	0

Как давно установлено Шульце, бобовые растения — люпин, соя, бобы, люцерна и др.— содержат в составе гемицеллюлоз только галактозу и арабинозу (Onslow [8]).

Однако все сказанное не снимает вопроса о том, не могут ли клубеньковые бактерии, развиваясь вне зоны доступности галактозы или галактуроновой кислоты, все же продуцировать активный перегной — уроно-протеидные комплексы. Для выяснения этого мы выращивали клубеньковых бактерий на бобовом агаре с глюкозой. Клубеньковые бактерии, развиваясь на глюкозе, могли преобразовать ее в галактуроновую кислоту по схеме: глюкоза → галактоза + O_2 → галактуроновая кислота + H_2O. Эта схема дана Onslow [9] еще в 1931 г. Возможно, с другой стороны, конечно, что глюкоза при взаимодействии O_2 может трансформироваться непосредственно в глюкуроновую кислоту. Однако последняя, в отличие от галактуроновой кислоты, как показали наши исследования (Рудаков [5]), дает лишь слабое подобие уроно-протеидных комплексов, представляющих собой активный перегной.

Выращенные на глюкозе клубеньковые бактерии были подвергнуты анализу на галактуроновую кислоту (по Толленсу). Результаты, как видно из табл. 5, оказались отрицательными.

Таким образом, возможность перевода клубеньковыми бактериями глюкозы в галактуроновую кислоту исключается.

Одновременно, после суточного автолиза при 50° на полученной микробной массе, были изготовлены гранулы и после обработки, анало-

гичной описанной выше, подвергнуты агрегатному анализу. Результаты представлены в табл. 6.

Таблица 6

Результаты агрегатного анализа почвенных гранул

(Обработка Rh. trifolii на глюкозе)

Вариант опыта	% водопрочных агрегатов
Почва + вода	0
Почва + автолизат клубеньковых бактерий	2
Почва + автолизат клубеньковых бактерий + $Ca(NO_3)_2$	2
Почва + автолизат клубеньковых бактерий, промороженная при —1° —10°	0

Как видно из этих цифр, клубеньковые бактерии на глюкозе не продуцируют галактуроновой кислоты, не создают после автолиза и активного перегноя, придающего почвенным гранулам прочность.

Совершенно аналогичный опыт проведен с культурой Escherichia coli и Bac. polymyxa. Результаты представлены в табл. 7.

Таблица 7

Результаты агрегатного анализа почвенных гранул

Вариант опыта	% водопрочных агрегатов	Галактуроновая кислота в мг на 1 г
Контроль	0	0
Escherichia coli	0	0
Bac. polymyxa 7070	0	0

Обсуждение результатов

Приведенные опыты показывают, что клубеньковые бактерии, сами по себе, без участия бобового компонента травосмеси (клевера) могут создавать активный перегной при наличии в среде галактуронной кислоты. Этот вывод влечет за собой признание абсолютной правильности утверждения Вильямса о внутриклеточном синтезе активного перегноя. В природной обстановке, конечно, вряд ли будет иметь место температура 50°, определяющая автолиз клеток. Автолиз может итти и при более низкой температуре (конечно медленнее). Не исключено и прижизненное выделение клеткой уроно-протеидных комплексов в состоянии достаточно высокой дисперсности, например в составе слизи.

Опыты подтверждают также выдвинутые Вильямсом положения о значении Ca и в особенности низких температур для придания прочности почвенным агрегатам.

Вместе с тем опыты, изложенные в настоящем сообщении, объясняют и роль бобовых в создании активного перегноя.

Нашими прежними опытами было показано, что прочную структуру почвенным агрегатам придает только клевер. Ни пшеница, ни тимофеевка, ни лен, ни капуста прочности почвенным агрегатам не придают.

Вильямс также отмечал [1], что злаковые компоненты травосмеси, формируя почвенные агрегаты, не обеспечивают придания им прочности из-за недостаточности освобождения Ca при их разложении. Этого мало.

Мы показываем, что клевер необходим и для самого процесса синтеза активного перегноя. Клевер поставляет необходимую для этого синтеза галактозу и галактуроновую кислоту.

Все бобовые (люпины, горох, вика, бобы, фасоль, соя, люцерна и др.) имеют в составе своих межклетников полисахариды (или пектины), состоящие из галактозы и арабинозы (Onslow [9]). В то же время в составе межклетников злаковых (пшеница, рожь) содержатся только арабиноза и ксилоза (Onslow [9]), галактоза же отсутствует. Этим объясняется и роль протопектиназных бактерий, освобождающих галактуроновую кислоту и галактозу из межклетников бобовых растений.

Выводы

1. Клубеньковые бактерии, выращенные на среде с галактозой, имеют в своем составе галактуроновую кислоту и образуют при автолизе активный перегной, склеивающий, а затем цементирующий почвенные агрегаты.

2. Клубеньковые бактерии, выращенные на среде с глюкозой, галактуроновой кислоты не содержат, и их автолизат свойствами активного перегноя не обладает.

3. Escherichia coli и Bac. polymyxa галактуроновой кислоты не содержат. Их автолизаты свойствами активного перегноя не обладают.

Московское отделение
Всесоюзного института сельскохозяйственной
микробиологии

Получено 31. III. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вильямс В. Р. Почвоведение, М. 1946.
2. Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на микробный состав в почве. Микробиология, XIII, 187, 1944.
3. Красильников Н. А. Влияние разлагающихся корней на состав микрофлоры в почве. Почвоведение, 2, 131, 1945.
4. Красильников Н. А. Микробиологические основы бактериальных удобрений. М., 1945.
5. Рудаков К. И. Образование гумуса в процессе развития растения. Труды юбил. сессии, посвящ. 100-летию со дня рождения В. В. Докучаева. М., 1949.
6. Финкельштейн М. Я. Пути повышения эффективности инокуляции клевера. Диссертация. Библиотека Института физиологии растений АН СССР. 1949.
7. Hopkins E. W., Peterson W. H. a. Fred E. B. Glucuronic acid a constituent of the gum of root nodule bacteria. J. Amer. Chem. Soc., 53, 306, 1931.
8. Onslow M. W. Practical plant biochemistry. Cambridge, 1923.
9. Onslow M. W. Principles of Plant biochemistry. Cambridge Univ. Press., 1931

ОСНОВОПОЛОЖНИК УЧЕНИЯ О КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЯХ АКАДЕМИК М. С. ВОРОНИН

А. Г. Конокотина

Сейчас, когда нитрагину вполне заслуженно придается большое значение как фактору, повышающему урожайность сельскохозяйственных растений, справедливо будет вспомнить славное имя основоположника учения о клубеньковых бактериях Михаила Степановича Воронина.

Академик М. С. Воронин был первым, кто правильно трактовал причины возникновения клубеньков на корнях бобовых. Он жил в те годы (1838—1903), когда в молодой еще науке микробиологии было сделано много открытий, смелых заключений, давших толчок для последующего ее развития, позволивших этой науке стать на твердую почву и двигаться дальше быстрыми шагами.

Михаил Степанович родился в 1838 г. 16 лет он поступил в университет. Его учителем был Лев Семенович Ценковский, а товарищем и другом Андрей Сергеевич Фаминицын. Еще студентом Михаил Степанович блестяще выполнил порученную ему работу «Подробное описание гранитных и диоритовых пород», за что получил серебряную медаль.

По окончании университета М. С. Воронин продолжал работу по изучению грибов и водорослей. Исследование некоторых из них Acetabularia и Espera — явилось темой диссертации на соискание степени магистра наук. Степень доктора ему была присуждена «honoris causae» без защиты диссертации за большие научные заслуги.

М. С. Воронин работал в области изучения грибов и водорослей. Им написано 64 научные работы, все они явились значительным вкладом в науку.

Работы М. С. Воронина отличались чрезвычайной тщательностью выполнения; они иллюстрировались великолепными рисунками, выполненными с изумительной точностью. Многие из них вошли в учебники ботаники.

И. П. Бородин [1], А. С. Фоминицын [8] и Л. И. Курсанов [6] отмечают громадное теоретическое и практическое значение его работ по микологии и фитопатологии.

Характерной особенностью исследований М. С. Воронина было рассмотрение объектов в динамике, в развитии; этим, как указывает Л. И. Курсанов, было положено начало онтогенетическому направлению в русской микологии. М. С. Воронин подробно изучил историю развития головневого гриба Tuburcinia trientalis, исследовал заболевание подсолнечника, вызываемое Puccinia heleanthi.

Много внимания М. С. Воронин уделил изучению склеротиний. Он исследовал склеротинию, поражающую бруснику, а также склеротинии, поражающие плоды вишень и яблонь (Sclerotinia cinerea и Scler. fructigena), и предложил меры борьбы с этими заболеваниями; им описана разнохозяйственная Sclerotinia heteroica, кочующая с голубики на богульник. За изучение заболевания капусты (капустная кила), описание возбудителя Plasmodiophora brassicae и разработку мер борьбы с этим заболеванием М. С. Воронин получил золотую медаль от Российского общества садоводов в 1878 г.

Занимаясь заболеваниями растений, М. С. Воронин натолкнулся на особые выросты на корнях и исследовал их у ольхи и у садового лю-

пина Lupinus mutabilis. При этом он сделал свое замечательное открытие, установив (1866), что у люпина образование клубеньков вызывается палочковидными тельцами. Эти формы в клубеньках до Воронина в 1858 г. видел Ляхман, но не понял их значения (см. Израильский и соавторы [5], Fred и соавторы [9] и Федоров [7]).

М. С. Воронин дал описание строения клубенька люпина и документировал работу прекрасным рисунком, поражающим своей точностью. Он описывает наросты на главном и боковых корнях люпина, постепенно разрастающиеся то с одной стороны корня, то в виде муфты обволакивающие корень, который как бы пронизывает это образование. Совершенно точно описаны молодые делящиеся клетки на периферии клубенька, содержащие небольшое количество палочковидных телец, более зрелые клетки с большим количеством этих телец и старые клетки в центральной части клубенька, частично разрушенные. М. С. Воронин отмечает изменение формы телец в зависимости от нахождения их в молодых или более зрелых клетках клубенька — удлинение телец по мере старения клеток клубенька. Он наблюдал в препарате при разрушении стенок клеток клубенька выход и движение телец (бактерий). Определяя характер и значение этих телец, М. С. Воронин говорит, что это, повидимому, живые организмы, сходные с теми, которые Эренберг называет вибрионами, Дюжарден — бактериями и Кон — зооглеями. Он полагал, что эти бактерии являются возбудителями образования наростов на корнях люпина. Эти данные легли в основу дальнейшего изучения взаимоотношений между клубеньковыми бактериями и бобовыми растениями.

Изучая наросты на корнях ольхи, М. С. Воронин говорит, что между наростами у ольхи и у люпина то общее, что они вызываются посторонними для растения возбудителями, однако строение выростов и характер возбудителей различны.

М. С. Воронин дает описание и рисунки выростов у ольхи. Он пишет, что паренхима корня ольхи в том месте, где образуется вырост, утолщается, вместо обычных 4—5 слоев образуется 15—20 слоев. Между клетками наблюдаются нити мицелия, которые местами дают отростки внутрь клеток, где распадаются на шары с зернистым содержанием. Эти шары Воронин считает спорами гриба, которые в первой своей работе он причисляет к головневым грибам Schinzia. В другой работе, касающейся этого же вопроса, он склоняется к тому, что организм близок к Plasmodiophora. Фред в своей монографии возбудителя клубеньков у ольхи относит к микобактериям. Но это нисколько не умаляет заслуг Воронина. На уровне знаний того времени легко можно было принять слизистые тяжи за нити мицелия. Даже после открытия Воронина, давшего ясное и точное описание строения клубеньков у люпина и их возбудителей, иностранными авторами еще долго высказывались мнения, что этими возбудителями являются грибы.

Что же касается природы и значения клубеньков люпина, то превосходные рисунки сделаны М. С. Ворониным, и его трактовка этих образований лежит в основе наших современных взглядов.

М. С. Воронин был членом четырех научных обществ: Московского общества испытателей природы, Общества любителей естествознания в Москве, Российского общества садоводства, Санкт-Петербургского общества естествоиспытателей, одним из учредителей которого он был; он состоял постоянным секретарем и деятельным членом этого общества до самой своей смерти.

М. С. Воронин был также почетным членом советов Харьковского и Юрьевского университетов и членом Ученого комитета земледелия и землеустройства.

Научные заслуги М. С. Воронина оценены, и его именем назван орган, образующийся в цикле развития некоторых сумчатых грибов (Woroninische hyphae). Установлен род Woronina водоросли из группы во-

шерий. Даны названия Woroninella и Woronina грибам из группы хитридиевых.

Академия Наук присудила М. С. Воронину Бэровскую премию и избрала его своим ординарным академиком.

В заключение нужно отметить, что если микологи и фитопатологи ценят труды М. С. Воронина и глубоко чтут его память, то микробиологи не всегда подчеркивают его приоритет как основоположника учения о клубеньковых бактериях и их взаимоотношений с бобовыми растениями.

М. С. Воронин оставил нам большое наследство, из которого развилось новое направление в микологии — фитопатология.

Велико теоретическое значение его работ, выяснивших строение и развитие многих организмов, но практическое значение их не меньше. При изучении заболевания сельскохозяйственных растений М. С. Воронин постоянно останавливался на влиянии окружающих условий и указывал меры борьбы с заболеваниями.

Работы М. С. Воронина являются примером тесной связи теории и практики.

Получено 3. VI. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородин И. П. Тр. Пресноводной биологической станции, СПб. Об-во естествоисп. 2, 1, 1906.
2. Воронин М. С. (Woronin M.) Observations sur certains excroissances que présentent les racines de l'aune et du lupin des jardins. Ann. Sci. Not. Bot., série 5, 6, 73, 1867.
3. Воронин М. С. (Woronin M.) Über die bei der Schwarzerle (Alnus glutinosa) und der gewöhnlichen Gartenlupine (Lupinus mutabilis) auftretender Wurzelanschwellungen. Mém. Acad. Imp. Sci., St. Pétersburg, série 7, 10, 6, 1866.
4. Воронин М. С. (Woronin M.) Bemerkung zu dem Aufsatze von Herrn H. Moller über Plassmodiophora Alni. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 3, 177, 1885.
5. Израильский В. П., Рунов Е. В. и Бернард В. В. Клубеньковые бактерии и нитрагин, 1933.
6. Курсанов Л. И. Микология, Учпедгиз, стр. 435, 453, 1940.
7. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы, 1948.
8. Фоминцын А. С. Тр. Об-ва естествоиспыт., 34, вып. 1, 210, 1903.
9. Fred E. B., Baldwin I. L., McCoy E. Root nodule bacteria and leguminous plants. Madison 1932.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Allen B. M. **The dynamic nature of thermophily. (Динамическая природа термофилии).** J. Gen. Phys., v. 33, 3, pp. 205—213, 1950.

Автором изучалась природа термофилии. Опыты проводились с рядом близких к B. subtilis культур термофильных бактерий, выделенных из почвы и навоза при температуре в 55—65°. Сравнение скорости отмирания клеток термофильных и мезофильных бактерий в отмытых суспензиях при температуре 55° показало, что клетки термофилов столь же неустойчивы, как и клетки мезофильного штамма B. subtilis. Добавление глюкозы в суспензию мало отражалось на результатах. Иная картина получилась при добавлении азотного питания, а именно: мезофилы продолжали отмирать, а термофилы начинали размножаться. В связи с этим была изучена инактивация некоторых ферментных систем термофилов при 55°. О степени инактивации ферментов судили по падению скорости потребления глюкозы и снижению пероксидазной и каталазной активности в отмытых суспензиях бактерий. Оказалось, что указанные ферментные системы при 55° постепенно инактивируются, причем скорость их инактивации обратно пропорциональна густоте суспензии. Такого рода факт автор объясняет накоплением в более густых суспензиях бактерий продуктов лизиса, могущих служить азотным питанием.

По мнению автора, термофилы способны жить при высокой температуре не вследствие высокой термостабильности их апоферментных белков, как полагали некоторые исследователи, а вследствие их способности синтезировать ферменты и другие клеточные компоненты с большей скоростью, чем та, с которой последние разрушаются при высокой температуре. Автор допускает, что по сравнению с мезофилами реакции синтеза клеточных элементов у термофилов имеют более высокий температурный коэффициент.

Ю. Сорокин

Sisler F. D. and ZoBell C. E. **Hydrogen-utilizing, sulfate-reducing bacteria in marine sediments. (Сульфатвосстанавливающие бактерии из морских отложений, способные использовать водород).** J. Bact., v. 60, No. 6, pp. 747—757, 1950.

Присутствие в морских отложениях и в нефтеносных месторождениях сульфатвосстанавливающих бактерий, способных использовать водород, может объяснить отсутствие водорода в тех местах, где его можно ожидать. Целью настоящего исследования является выяснение вопроса о распространении и накоплении водородокисляющих десульфуризаторов в морских отложениях, как современных, так и древних. Было собрано 245 образцов современных отложений, взятых из различных мест и с разных глубин Антарктического, Арктического, Атлантического и Великого океанов и древних отложений, полученных из нефтяных скважин Техаса, Калифорнии и Оклахомы с разной глубины (до 9000 футов). Из проб производились высевы на различные среды: 1) для автотрофного окисления водорода: 0,5% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01% $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ на морской воде, pH = 7,5, Eh = 100 мв; 2) для гетеротрофного окисления: K_2HPO_4 — 0,2 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,02 г, $(NH_4)_2SO_4$ — 1,0 г, Na_2SO_3— 0,1 г, $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$—0,1 г, аскорбиновая кислота 0,1 г, Ca — молочнокислый 3,5 г, пептон 1,0 г, агар 3,0 г, морской воды 1000 см³. Для автотрофного окисления авторы применяли градуированные с притертыми пробками склянки, которые на $^3/_5$ объема наполнялись средой. Склянки попарно соединялись сифоном. Воздух вытеснялся из одной склянки путем наполнения ее средой из второй, после чего в первую склянку нагнетался водород в таком количестве, чтобы вытесненная из этой склянки среда заполнила вторую склянку до пробки. Потребление водорода в первой склянке отмечалось по объему перетекшей через сифон среды из второй склянки в первую. Остаточный газ определялся в приборе Орса. Реакция проходила по схеме:

$$H_2SO_4 + 4H_2 \rightarrow H_2S + 4H_2O$$

$$H_2S + FeSO_4 \rightarrow FeS + H_2SO_4$$

Для гетеротрофного окисления водорода применялись пробирки с притертыми пробками, в которые погружались перевернутые маленькие пробирки, наполненные водо-

родом. Использование водорода отмечалось по объему остаточного газа в перевернутых пробирках; восстановление сульфатов — по образованию черного осадка сульфида железа. Опыты проводились при 28°, продолжительность опытов была разной — от 2 до 5 недель.

В результате были получены накопительные культуры сульфатвосстанавливающих бактерий, относящихся к Desulfovibrio. Из 245 образцов были обнаружены бактерии, использовавшие водород на неорганической среде в 44%, на органической среде — в 61% образцов; восстановление сульфатов отмечалось на неорганической среде в 50%, на органической среде — в 76% образцов. Так как неорганическая среда не содержала никаких других источников энергии, кроме водорода, то, следовательно, бактерии использовали элементарный водород в качестве энергетического источника для своей жизнедеятельности. Авторы приходят к выводу, что десульфуризаторы, использующие водород, широко распространены в морских отложениях, причем в верхних слоях ила, ближе к разделу ил — вода, эти бактерии представлены почти повсеместно, а на больших глубинах они встречаются только спорадически и в значительно меньших количествах.

Л. Осницкая

ZoBell C. E. and Oppenheimer C. H. **Some effects of hydrostatic pressure on the multiplication and morphology of marine bacteria. (Некоторые данные действия гидростатического давления на размножение и морфологию морских бактерий).** J. Bact., v. 60, No. 6, pp. 771—781, 1950.

Гидростатическое давление в морях, повышающееся на 0,1 атм. на 1 м, является одним из факторов, действующих на жизнедеятельность бактерий. В литературе имеются указания, что критическим давлением для микроорганизмов являются 3000—12 000 атм. значительно превышающие давления наибольших глубин морей — 1100 атм. В то же время ZoBell показал, что многие микроорганизмы почвы и воды в период логарифмической фазы своего развития убиваются через 48 часов при 30° давлением 500—600 атм., а размножение их приостанавливается уже при 300 атм. В настоящей работе ZoBell изучал распространение, размножение и морфологию морских бактерий в связи с гидростатическим давлением. Опыты проводились на питательном бульоне (0,5% пептона, 0,5% дрожжевого экстракта и 0,01% фосфорнокислого железа в морской воде, pH = 7,5). В качестве материала для заражения служили выделенные чистые культуры морских бактерий, которые вносились в определенном количестве в среду, разлитую по маленьким пробиркам (10 × 50 мм). Пробирки закрывались каучуковыми пробками, действующими под влиянием наружного давления как поршни. Пробирки помещались в специально изготовленный из стальных цилиндров сосуд для давления, соединенный с гидравлическим прессом. Сосуд наполнялся водой, обработанной иодным раствором, и погружался в водяную баню, в которой поддерживалась соответствующая для развития микроорганизмов температура. По помутнению, служившему признаком развития, было установлено, что размножение большинства культур подавлялось давлением от 200 до 600 атм. Из 56 новых видов морских бактерий размножение 20 культур замедлялось при 200 атм., на 35 культур весьма неблагоприятно действовали 400 атм., 600 же атм. полностью подавляли развитие 48 культур. Из 56 культур после 96-часового пребывания при 30° 5 культур были убиты под давлением 200 атм., 12 — 400 атм. и 33 — 600 атм. Эти результаты показали, что морские бактерии так же реагируют на давление, как и бактерии почвы и пресной воды. Однако некоторые культуры, выделенные из морской воды с больших глубин или же из пластовых вод, были способны развиваться при давлениях, изобарных давлениям, при которых они были найдены в природе.

Несколько культур, включая виды Desulfovibrio, оказались облигатными «барофилами», т. е. хорошо развивались только при высоком давлении.

На примере с Serratia marinorubra, устойчивой к повышенному давлению, было показано, что влияние давления сказывалось на морфологии клетки: маленькая палочка (0,3—0,5 × 0,6—1,5 μ) в обычных условиях, S. marinorubra на той же среде, но при 600 атм. превращалась в длинные нити (до 200 μ), без намека на деление. Однако уже через несколько минут пребывания при 1 атм. нити начинали делиться на короткие палочки, и в течение 1—2 часов при 25° культура приобретала обычный вид: как S. marinorubra, так и Vibrio phytoplanktis теряли подвижность при 400—600 атм., но после перенесения в атмосферное давление вновь приобретали подвижность. Аналогичные данные были получены еще с 3 культурами «барофильных» палочек.

Л. Осницкая

Gray E. I. and Smith J. D. **A new aquatic nitrogen-fixing bacterium from three Cambridgeschire chalk streems. (Новая водная азотфиксирующая бактерия из трех известковых рек Кембриджского графства).** J. Gen. Mikrob., v. 4, pp. 281—285, 1950.

Азотфиксирующая бактерия была выделена из трех рек, богатых известняком из тех мест, где круглый год имеются зеленые растения. Накопительная культура по-

лучалась путем добавления к речной воде маннита и K_2HPO_4 и выдерживания при 15°. На 5—6-й день из бактериальной пленки проводился пересев на маннитно-почвенный и маннитно-фосфатный агар. Посевы выдерживались при 22°. Через несколько пересевов была получена чистая культура бактерий. Последние красились по Граму и имели форму палочек 6—8 μ длины. Исследования при помощи электронного микроскопа показали наличие перитрихиальных жгутиков, более крупных у полюсов клеток.

Выделенные бактерии отличаются аэробностью, психрофильностью, желатину не разжижают и окрашивают ее в розовый цвет. Аммиак, газ, кислоты, индол, ацетилметилкарбинол в культурах не образуются. Бактерии не изменяют лакмусовое молоко и не восстанавливают метиленовую синь. Оптимум pH = 7,2—7,4. Молекулярный азот бактерии усваивают в небольшом количестве (0,006—0,03 мг азота на 10 мл культуральной жидкости).

Gibbs M., Dumrose R., Bennet F., Bubeck M. **On the mechanism of bacterial fermentation of glucose to lactic acid studied with C^{14} glucose. (Изучение механизма сбраживания бактериями глюкозы в молочную кислоту с помощью C^{14} глюкозы).** J. Biol. Chem., v. 184, No. 2, pp. 545—549, 1950.

Для изучения механизма гомоферментативного молочного брожения была использована глюкоза с меченым C^{14} углеродом у 1, 3 и 4 атомов. Изучалось брожение Lactobac. casei. Выяснилось, что при сбраживании глюкозы в гомоферментативном брожении CO_2, как и следовало ожидать, не фиксируется. Если меченый углерод находился у 1 С, то он оказывается в карбоксильной группе молочной кислоты ($CH_3CHOHCOOH$). Если C^{14} был в глюкозе в положении 3,4, то он оказывается в положении в молочной кислоте ($CH_3CHOHCOOH$). Таким образом, можно заключить, что при гомоферментативном брожении происходит симметричное расщепление глюкозы на два трехуглеродных соединения. Процесс идет одинаково в аэробных и анаэробных условиях.

И. Л. Работнова

Hutner, S. H. **Anaerobic and aerobic growth of purple bacteria (Athiorodaceae) in chemically defined media. (Анаэробный и аэробный рост пурпурных бактерий (Athiorodaceae) в среде определенного химического состава).** J. Gen. Microb., v. 4, pp. 286—293, 1950.

Задача автора сводилась к выявлению факторов роста, общих как для аэробного, так и анаэробного роста пурпурных бактерий.

Исследования проводились со штаммами, адаптированными к аэробным условиям. При постановке опытов в анаэробных условиях применялась в основном методика Ван Ниля (см. реферат в журн. «Микробиология», 8, стр. 620, 1939).

В состав среды входили соли тяжелых металлов и факторы роста: аневрин, никотиновая кислота, биотин и *p*-аминобензойная кислота. Наблюдения за развитием Rhodopseudomonas capsulata, R. gelatinose, R. palustris, R. spheroides, Rhodospirillum rubrum показали сходство факторов роста как для аэробных, так и анаэробных условий. Кроме того, автор приходит к выводу, что дрожжевой экстракт не обязателен при наличии в среде тяжелых металлов.

Т. Казанская

Kramer N., Doetsch R. **The growth of phenol-utilizing bacteria on aromatic carbon sources. (Рост бактерий, использующих фенол, на ароматических источниках углерода).** Arch. Bioch., v. 26, No. 3, p. 401—405, 1950.

Авторы пытались решить вопрос об использовании ароматических соединений бактериями, окисляющими фенол. Были применены 14 культур бактерий, принадлежащих к родам Achromobacter, Micrococcus и Vibrio. Исследовалось 55 разнообразных циклических соединений. Выяснилось, что насыщенные циклические соединения, а также дифениловые и фенольные соединения, имеющие хлор, нитрогруппу или аминогруппу, не дают видимого развития всех 14 бактерий в течение 5 дней. Чем больше число боковых групп, тем хуже развитие.

И. Л. Работнова

Melin E. a. Nilson H. **Transfer of radioactive phosphorus to pine seedling by means of mycorrhizae hyphae. (Передача радиоактивного фосфора сеянцам сосны посредством микоризных гиф).** Phys. Plantarum, 3, No. 1, pp. 88—92, 1950.

Значение микоризы как питающей абсорбционной системы деревьев подтверждено многими исследователями, однако прямых измерений поглощения и переноса элементов микоризными гифами произведено не было. Авторы применили методику, обеспечивающую соприкосновение с изотопом только одних микоризных гиф.

На дно широкогорлой колбы Эрленмейера (из стекла Пирекс) емкостью 500 мл эксцентрично помещалась цилиндрическая стеклянная чашечка с внутренним диамет-

ром 3,5 см и высотой 1,8 см, в которую насыпалось 40 г очищенного песка. Остальное пространство колбы заполнялось песком (160 г) с таким расчетом, чтобы края чашечки поднимались на 3—7 мм над его уровнем. В оба сосуда вносился питательный раствор в количестве 0,25 мл на 1 г песка. Состав среды: K_2HPO_4 — 0,5 г; $CaCl_2$ — 0,05 г, NaCl — 0,025 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,15 г; $(NH_4)_2HPO_4$ — 0,25 г; лимоннокислого железа (1%) — 1,2 мл; глюкозы — 2,5 г, тиамина 15 λ на 1 л дестиллированной воды. Асептические сеянцы Pinus silvestris (по одному сеянцу на колбу) вносились в конце апреля, а через четыре месяца чашечки заражались мицелием Boletus variegatus (Sw.) Fr. Через два месяца, когда на сеянцах образовалась микориза, в чашечки прибавлялся раствор $NaHPO_4$, содержащий изотоп P^{32}. Определение изотопа производилось при помощи счетчика Гейгер — Мюллера. Перед этим корни тщательно отмывались, отдельные отрезки их измерялись волюминометром и растирались в ступке. Ввиду возможности диффузии изотопа из гиф в песок, окружающий чашечку, и поглощения его оттуда корнями учитывалась радиоактивность водного экстракта песка, которая принималась во внимание при оценке активности изотопа. Измерения радиоактивности обнаружили присутствие незначительного количества P^{32} в отрезках немикоризных окончаний главных и боковых корней, в то же время в микоризных отрезках изотоп был найден в больших количествах. По мнению авторов, изотоп переносился из своего источника только гифами, так как при внесении его в чашечки с мицелием Boletus последний был связан с микоризными корешками. P^{32} перемещается из микоризных корней в главные корни, стебли и хвою. Через 5—7 часов после внесения изотоп уже обнаруживается в сосновых иглах.

Н. Шемаханова

Tove S., Niss H., Wilson P. **Fixation of N_2^{15} by excised nodules of leguminous plants. (Усвоение N_2^{15} изолированными клубеньками бобовых).** J. Biol. Chem., v. 184, No. 1, pp. 77—82, 1950.

Большинство прежних опытов по обнаружению усвоения азота у отрезанных клубеньков с применением изотопного азота было безуспешными (см. реферат в журн. «Микробиология», т. VIII, вып. 3, 1949).

Настоящая работа представляет повторную попытку изучения азотфиксации с применением N^{15} у целых и растертых клубеньков сои и коровьего гороха, а также у растертых клубеньков, отмытых от растворимых веществ. Определения усвоения азота дали отрицательные результаты. Несмотря на все меры асептики, применяемые при такого рода работах, в некоторых случаях был обнаружен в качестве загрязнения Cl. Pasteurianum. Авторы полагают, что изолированные клубеньки не способны усваивать азот. Описанные в литературе положительные случаи можно объяснить наличием Cl. Pasteurianum, не замеченного исследователями.

И. Л. Работнова

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

И. И. Мечников. **Академическое собрание сочинений.** Гл. редактор Н. Н. Аничков. Том шестой. Редактор Л. А. Зильбер. Издательство Академии медицинских наук СССР. М. 1950, 366 стр. 3 портрета, 11 таблиц.

С большим запозданием вышел, наконец, первый том из подготовляемого по постановлению СНК СССР от 15 мая 1945 г., пятнадцатитомного собрания сочинений нашего великого микробиолога. В «Проспекте», выпущенном в 1949 г., Издательство обещало уже в том же году издать два тома, а в 1950—1951 гг.— закончить все издание. Выпущенный, пока единственный, шестой том не позволяет еще в полной мере судить о принципах построения и публикации, а также об объеме намеченного полного «академического» собрания сочинений И. И. Мечникова. Судя по «Проспекту», редакция распределила все литературное наследие И. И. Мечникова по проблемно-тематическому принципу; проблемам микробиологии и иммунологии намечено посвятить не менее пяти томов. Одним из этих томов и является вышедший шестой том. В нем собраны статьи по иммунитету, опубликованные с 1883 по 1894 год; статьи дальнейших лет войдут в следующий, седьмой том, а основное произведение И. И. Мечников в области иммунологии — «Невосприимчивость в заразных заболеваниях» составит отдельный том. Этим томам, посвященным проблемам иммунитета, должен предшествовать специальный том по проблемам микробиологии, а этому последнему — том, посвященный проблемам внутриклеточного пищеварения, фагоцитоза и сравнительной патологии воспаления. Этот план редакции, казалось бы, не лишен логичности и в известной мере как-будто соответствует этапам развития научной деятельности И. И. Мечникова. Хорошо известно, что к своей фагоцитарной теории И. И. Мечников пришел на основе изучения явлений внутриклеточного пищеварения у низших животных, а целиком поглотившие его в дальнейшие годы сравнительно-патологические исследования воспалительных процессов окончательно вовлекли Мечникова в проблемы бактериологии и иммунологии. Однако, как мы постараемся показать на примере вышедшего тома, распределение материала по томам намечено редакцией не совсем удачно и в значительной мере произвольно.

Рецензируемый том открывается классическими «Исследованиями о внутриклеточном пищеварении у беспозвоночных» (1883). Повидимому, редакция исходила при этом из известного заявления самого Мечникова о том, что именно эти исследования привели к переходу его от проблем зоологии к патологии. Однако, как раз поэтому работа является одной из первых не в серии работ собственно по иммунитету, а открывает цикл работ, приведших к созданию И. И. Мечниковым всей «сравнительной патологии воспаления». Таким образом, большим пробелом будет отсутствие этого исследования именно в специальном томе, посвященном внутриклеточному пищеварению и сравнительной патологии воспаления. К тому же «Исследования» 1883 г. вовсе не являются первой и единственной работой по вопросам внутриклеточного пищеварения. Как известно, уже с 1877 г. Мечников начал публикацию серии работ в этом направлении и в 1880—1882 гг. вышли его краткие предварительные сообщения о внутриклеточном пищеварении у кишечнополостных и других низших животных.

Если редакции хотелось подчеркнуть идейную связь учения Мечникова об иммунитете с его работами по внутриклеточному пищеварению и фагоцитозу, то для этого достаточно было бы ограничиться яркой речью Мечникова на VII Съезде русских естествоиспытателей и врачей в том же 1883 г. «О целебных силах организма». Однако и следующие далее в томе классические работы «О грибковом заболевании дафнии» (1884), «Об отношении фагоцитов к бациллам сибирской язвы» (1884), «О борьбе клеток против рожистого стрептококка» (1887), «О борьбе фагоцитов при возвратном тифе» (1887) и целый ряд других с не меньшим правом могли бы попасть в том, посвященный фагоцитарному учению. Ведь именно эти работы явились этапными в борьбе Мечникова с противниками фагоцитарной теории. Совершенно непонятно далее, почему небольшая статья 1889 г. «Исследования по внутриклеточному пищеварению» (стр. 154—157) попала в этот том. Вообще, весь основной фактический материал и проблематика статей Мечникова по крайней мере до 1890 г. послужила основой для создания им в 1892 г. его классического труда «Лекции о сравнительной патологии воспаления». Естественно было бы, чтобы они и попали в тот же том. И лишь начиная с «Исследований по иммунитету» (1889—1895; шесть мемуаров) можно говорить в известном смысле о собственно иммунологических работах Мечникова. К их числу относится и последовавшая несколько позже

серия «Исследований о холере и вибрионах» (1893—1894; четыре мемуара). Однако и здесь редакция поступила совершенно произвольно, ограничившись помещением в настоящем томе лишь 1-го и 4-го мемуаров, перенеся 2-й и 3-й мемуары в том по микробиологии. Этим она нарушила и в известном смысле исказила подлинные замыслы Мечникова. Попытка редакции размежевать проблемы иммунологии и микробиологии несомненно натолкнется на целый ряд других затруднений. Так, редакция уже теперь оговаривает в предисловии, что работы по вакцинации против брюшного тифа (1912—1914) она намерена перенести в микробиологический том. Неудачность этого решения усугубляется еще тем, что том по микробиологии предшествует иммунологическим томам. Между тем большинство бактериологических работ Мечникова относится к последнему периоду его деятельности.

Резюмируя все сказанное о структуре тома, можно признать неудачной попытку редакции размежевать материал по искусственным тематическим рубрикам, не отражающим правильно всей оригинальности творческого пути Мечникова, в котором тесно переплетаются проблемы сравнительной патологии и микробиологии. Характернейшей чертой научного наследия Мечникова и является та поразительная цепь следовавших друг за другом обобщений, которые привели его от изучения внутриклеточного пищеварения к созданию фагоцитарной теории и далее к сравнительной патологии воспаления и теории иммунитета. Поэтому для сохранения этого неповторимого сочетания идей и отражения их эволюции в творчестве Мечникова следовало бы материал томов, посвященных им, расположить в едином хронологическом порядке.

Перейдем теперь к вопросу о полноте и точности воспроизведения текстов Мечникова.

Называя настоящее издание несколько необычно «академическим», редакция, повидимому, имела в виду именно его полноту и точность воспроизведения текстов. Насколько это удастся выполнить редакции, еще невозможно установить по одному тому. К тому же принятая редакцией группировка материала не позволяет с уверенностью говорить о месте тех или иных статей в издании. Так, обнаружив в рецензируемом томе две статьи по внутриклеточному пищеварению и ряд статей по фагоцитозу, читатель вправе обеспокоиться, почему не попали в него следующие статьи близкого содержания: «Исследования о мезодермных фагоцитах некоторых позвоночных животных» (1883), «Материалы к сравнительной патологии воспаления» (1884), «Паразитные болезни и внутриклеточное пищеварение» (1886), а также ряд рефератов из «Анналов Пастеровского института» работ Беринга, Франка, Роговича (1889) и других. Поставив в качестве рубежа для шестого тома 1894 г., редакция почему-то не включила в него следующих работ этого же года: «Ответ нескольким критикам фагоцитарной теории» («Анналы Института Пастера», т. 8) и «Современное состояние вопроса об иммунитете» (там же).

Большинство публикуемых в рецензируемом томе работ было опубликовано на иностранных языках и появляется в русском переводе впервые. Ряд статей был опубликован уже при жизни Мечникова в русском переводе, в журнале «Русская медицина». Редакция правильно сделала, использовав эти переводы. Однако она обязана была тщательно сличить их с иностранными текстами и в случае обнаружения пропусков и искажений, их восстановить и исправить. Редакция, повидимому, этого не проделала. Это относится по крайней мере к «Исследованиям о внутриклеточном пищеварении у беспозвоночных». Немецкий текст этой статьи несколько полнее русского и содержит ссылки на рисунки и дает их описание, опущенное в русском издании [1]. Нам казалось бы обязательным для издания, претендующего на «академическое», воспроизведение как двух таблиц рисунков, так и восстановление текста, к ним относящегося. Совершенно непонятно далее, почему выпали в конце этой же статьи обозначение места и дата написания ее, имевшиеся как в немецком, так и русском текстах («Рива, 22 мая 1883 г.»). Редакция не заметила и не исправила также грубого искажения, допущенного в русском тексте («самоделение», стр. 21 — вместо «самоизлечение»; ошибка произошла от того, что немецкое слово «Selbstheilung» было принято переводчиком за «Selbsttheilung») [2].

При публикации текстов и их переводов редакция не сохранила бережно всех особенностей старого текста. Так, почти везде опущены приставки («г.» и проч.) и инициалы при фамилиях. Историческую речь «О целебных силах организма» (1883) редакция воспроизвела не по «Протоколам VII Съезда естествоиспытателей», а по несколько исправленному тексту перепечатки (1913). В некоторых статьях текст, выделенный Мечниковым петитом, напечатан тем же шрифтом, что и весь остальной текст (таковы описания опытов на стр. 331—332, 333—334, 335—336, 337—338). Не везде воспроизведены разбивки текста на отдельные отрывки, отделенные черточками и т. д. Наконец, оказались неисправленными опечатки, допущенные в первопечатных текстах и к ним добавлены многочисленные новые опечатки. Так на стр. 43—

[1] См. эти дополнительные описания в наших примечаниях к «Избранным биологическим произведениям» И. И. Мечникова. Изд. АН СССР (серия «Классики науки»).

[2] К тому же эта ошибка уже исправлена нами в упомянутом выше издании.

44 в фразе «развитие обнаруживалось на другой день, и притом даже микроскопически» — налицо явные две опечатки: вместо «развитие» следует «разлитие», и вместо «микроскопически» следует «макроскопически». На стр. 48 следовало исправить латинское родовое название ящерицы (вместо Laurta следует Lacerta) и т. д. Эти примеры можно было бы значительно умножить.

Остается сказать несколько слов о переводах и о редакционных текстах. Насколько можно судить по беглому выборочному сличению текстов, переводы в общем точны и удовлетворительны. Однако перевод некоторых терминов и заглавий статей нам кажется неудачным. Так, часто применяемое Мечниковым слово «Verdauung» обычно переводится словом «переваривание» (стр. 33, 64 и др.), в то время как уже ясно из текстов, переведенных при Мечникове, что правильнее применять слово «пищеварение». Серия статей по иммунитету названа «Исследованиями», а серия статей по холере — «Изучение»; правильнее было бы как раз наоборот — в первом случае в оригинале они названы Etudes (Этюды или Очерки), а во втором — Recherches (Исследования). Часто встречающееся в работах о холере выражение immunité locale переводится то лаконично — «иммунитет местности» (стр. 307, 345), то толковательно — «местности, благополучные по холере» (стр. 301 и др.). Транскрипция иностранных фамилий в целом ряде случае дана неправильно и не однотипно (Бабеш и Бабес, Билэ вместо Биль, Рисс вместо Ресс и т. д.), а иногда фамилии вовсе не даны по-русски (стр. 302). Вряд ли следовало, с другой стороны, воспроизводить везде в скобках иностранные транскрипции имен. Это лучше сделать в специальном «Именном указателе», об отсутствии которого приходится пожалеть. Иностранные литературные ссылки иногда переведены по-русски (стр. 64, 85 и др.), но что особенно недопустимо, некоторые русские работы цитируются по-немецки (стр. 93 и др.). Иногда оставлены вовсе без перевода фразы, принятые за название издания (стр. 288).

Тексты Мечникова сопровождает лаконичное «Предисловие» редакции и довольно скудные примечания. Вызывает удивление, что редакция нашла возможным перенести вступительную статью в следующий том. Ее наличие уже в этом томе было крайне необходимо. Неудачен и не выдержан единообразно способ ссылок на редакционные примечания. Они даны в виде обычных строчных цифр, заключенных то в круглые скобки, то в квадратные (стр. 94); подчас их можно принять просто за цифровые данные (см. например, стр. 37). Некоторые редакционные примечания вкраплены в самый текст (см. стр. 113, 114, 313), в то время как другие совершенно аналогичные примечания даны сзади текста (например, прим. 31); в ряде же мест их отсутствие вводит в заблуждение читателя. Так на стр. 305 дана совершенно непонятная и к тому же неверно переведенная сноска («См. дальше в том же номере, стр. 590»; следует в «этом» и имеется в виду номер «Анналов Института Пастера», в котором была опубликована как статья Мечникова, так и упоминаемого им Неттера). В целом следует признать редакционную обработку текстов, помещенных в рецензируемом томе, недостаточной и не вполне точной и тщательной. Она не отвечает высоким требованиям, которые естественно можно предъявить к подобному «академическому» изданию нашего великого биолога.

Однако, несмотря на все упомянутые досадные промахи, следует признать, что Издательство дало драгоценный подарок широким кругам советской интеллигенции, особенно врачам и микробиологам, сделав доступными многие блестящие исследования великого русского ученого, рассеянные в различных малодоступных и в подавляющем большинстве иностранных журналах.

Издательство должно приложить все усилия к ускорению выхода этого важнейшего издания и повышением его качества сделать его достойным памятником нашему великому естествоиспытателю.

А. Е. Гайсинович

М. Рейнер и В. Нелсон-Джонс. **Роль микориз в питании деревьев** (M. C. Rayner and W. Nelson-Jones, **Problems in Tree Nutrition**, 1946, 184 pp.). М., Изд-во иностранной литературы, 1949, стр. 235.

Великий Сталинский план преобразования природы, в осуществлении которого участвуют широкие народные массы, предусматривает создание лесных полос и целых массивов на площадях, измеряемых миллионами гектаров. Значение проводимых работ по облесению засушливых районов огромно, их результаты должны сказаться уже в ближайшие десятилетия, а частично сказываются уже и сейчас. Меняется климат, изменяются почвенные условия, повышается урожайность наших полей, все это повышает уровень благосостояния трудящихся и служит залогом дальнейшего процветания нашей Родины.

Успех лесоразведения зависит от очень многих причин, более или менее различных в каждой отдельной местности. Однако, имеется условие, в равной мере общее для любых областей или районов,— это наличие в почве необходимых для развития древесных растений микоризных грибов.

В нашей стране широко развернулось изучение вопроса о микоризах, этой интереснейшей проблемы биологических взаимоотношений между грибом и высшим растением. Из узкого вопроса, интересующего по преимуществу лесоводов, проблема эта в наше время переросла в вопрос большого теоретического и народнохозяйственного значения. Вместе с тем приходится признать, что проблема микориз изучена

еще далеко не полностью и заключает еще немало нерешенных вопросов. Поэтому для советского читателя представляет несомненный интерес ознакомиться с положением вопроса в зарубежных странах. С этой точки зрения можно приветствовать выпуск Издательством иностранной литературы книги под приведенным выше заглавием. Однако окончательное суждение о том, насколько удачной была мысль издательства представить перед советским читателем данное «достижение» зарубежной научной мысли, может быть сделано на основе оценки содержания книги, что и является задачей настоящей рецензии.

Необходимо отметить, что русский перевод издан в виде изящно оформленной книги объемом более 14 п. л. со многими вклейками, представляющими довольно удачные репродукции иллюстраций английского издания. В книге шесть глав, считая в том числе и введение; из них пять написаны М. Рейнер, одна — последняя — В. Нелсон-Джонсом. Все эти главы являются перепечаткой статей, напечатанных в различных журналах в различное время (начиная с 1934 г.). Это обстоятельство в существенной степени сказывается на содержании книги, гетерогенный характер которой все время воспринимается читателем как нечто, мешающее видеть в книге законченное целое.

Авторы, повидимому, не стремились представить перед читателями сложную проблему микоризы во всей ее полноте, ограничившись сообщением результатов своих собственных опытов и приведением некоторых обобщений, которые они из них делают. Только в главе 1 (введение) находим несколько более широкий эскиз современных представлений о микоризных грибах и их биологической связи с высшими растениями; впрочем, в этой вводной главе нет нужной полноты (но имеются ненужные подробности). Здесь читатель не находит того, на что он был бы вправе рассчитывать: нет четкой формулировки установившихся в науке бесспорных положений, нет достаточно ясного представления о ближайших задачах науки в области изучения и применения микориз, мало интересного теоретического материала. Стоявшая перед авторами практическая задача — найти пути для управления развитием микориз с целью улучшить рост древесной растительности — описывается ими с ненужными для нас подробностями, излишним многословием и постоянными повторениями. В общем советский читатель имеет все данные, чтобы остаться далеко не удовлетворенным этой книгой.

Здесь читатель постоянно встречается с утверждениями авторов о том, что тот или иной вопрос еще не доработан: видовой состав грибов, с которыми имели дело авторы, остался не полностью установленным; выводы, к которым приходят авторы, часто представлены в виде предположений, догадок или гипотез. Самая трактовка микоризы как особой формы существования почвенного гриба, находящегося в тесных биологических взаимоотношениях с корнем, лишена законченности и ясности, базируется на проблематичных утверждениях, подчас неверно или неудачно ориентирующих читателя. В качестве соответствующих примеров приведем хотя бы один (стр. 44), где М. Рейнер пишет: «...причина все еще существующих разногласий, касающихся физиологических взаимоотношений между грибом и деревом-хозяином, состоит в невозможности точно отличить истинную микоризу данных видов от псевдомикоризы, возникшей под действием неблагоприятных почвенных условий».

Многократно пишется о каких-то паразитах (растения или микоризы?), но не дается ни морфологической, ни систематической характеристики этих паразитов, почему самое существование их остается для читателя неясным (стр. 44, 58, 188). Все эти неясности и неточности с известной натяжкой допустимы в журнальной статье, в книге же они производят неприятное впечатление и свидетельствуют о том, что авторы поторопились с ее изданием. Упрека заслуживает и самое построение книги, с ее случайными главами (след происхождения книги, возникшей из разрозненных журнальных статей): из имевшегося в распоряжении авторов материала можно было составить логически-цельную, хотя бы и менее объемистую книгу; труд, который они затратили бы на редакторскую работу, не может идти ни в какое сравнение с трудом, выпавшим на долю читателей, принужденных многократно просматривать главы с целью воссоздать в целом тот или иной вопрос. К внешним достоинствам книги могут быть отнесены многочисленные, в большинстве случаев хорошие иллюстрации и наличие в каждой главе завершающих «кратких обсуждений результатов» и конспективных обзоров содержания глав.

Для читателя остается непонятным, почему в книге, посвященной изучению одной из сторон поведения грибов в почве, так мало уделено внимания свойствам тех почв, с которыми авторы работали, и еще меньше — обзору представителей почвенной микофлоры, с которыми взаимоотношения микоризообразующих грибов должны привлекать внимание исследователей и читателей в не меньшей мере, чем взаимоотношения с древесными породами, поскольку первое является фоном, на котором развивается второе.

В силу отмеченных (и отчасти обойденных нами молчанием) недочетов этой книги, ее нельзя характеризовать как пособие по вопросам микоризного питания деревьев, равным образом трудно приписывать ей методическое значение. Это не более как отчет о проведенной за несколько лет работе, отчет, имеющий частные (отнюдь не общие) достоинства.

Для полной характеристики книги целесообразно несколько подробнее остановиться на более углубленных вопросах, которые получили отражение в книге.

Заслуживает интереса основная позиция авторов в вопросе о внесении компостов в почвы, явно непригодные для лесоразведения. Разнообразные компосты, составленные по рецептуре одного из авторов и заключающие до 1% азота в той или иной форме, наряду с источниками клетчатки и балластным материалом, имеют, по словам автора, не только значение удобрений, но в первую очередь значение примеси, влекущей глубокие изменения биологии почвы, что сказывается и на свойствах почвы как источника питательных веществ, и на образовании условий для нормального течения микробиологических процессов в ней, что в конечном итоге приводит к созданию нормально функционирующего микоризного аппарата. Наблюдающееся усиление роста молодых деревьев не только предшествует образованию микориз, но «в сущности непосредственно обусловливает его». Усиление роста приводит к появлению большого числа мелких боковых корней, на которых после того образуются микоризы. Может быть, объяснение, даваемое автором таким фактам (хемотактическое раздражение микоризных грибов со стороны выделяемых корнем фосфатидов), не вполне еще доказано, но оно, тем не менее, весьма интересно. Своеобразна и интересна гипотеза авторов, построенная для объяснения низкой микоризной активности исследовавшихся авторами почв, сводящаяся к интоксикации этих почв. Хотя этот вопрос, по нашему мнению, тоже не разрешен до конца, он получает в работе авторов интересное освещение. Конечно, плохие биологические условия изученных в Англии образцов почвы зависят не от избытка накопляющейся в ней клетчатки, но последнее только свидетельствует о недостаточной активности протекающих в ней микробиологических процессов, а это не может не сказаться на нормальной жизнедеятельности микоризообразующих грибов.

В конечном счете следует признать, что благодаря выходу в свет русского перевода рецензируемой книги советские исследователи получили не монографию и не методическое руководство по микоризам, но приобрели возможность подробно ознакомиться с состоянием зарубежной науки по данному вопросу. Осторожное и критическое освоение представленных в книге данных может принести советскому читателю некоторую пользу.

Н. Наумов

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Общая микробиология

Бершова О. И. Микробиологическое исследование Среднего Днепра. Сообщ. 1. Микробиологич. журнал (Киев), 1950, вып. 2, стр. 3—15 (на украинском языке).

В обществе микробиологов, эпидемиологов и инфекционистов. (Пленарное заседание О-ва, посвященное докладу Г. М. Бошьяна «О природе вирусов и микробов», 23 мая 1950 г. Обзор докладов и выступлений). Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1950, № 8, стр. 83—95.

Вайндрах Г. М. Д. И. Ивановский. Фельдшер и акушерка, 1950, № 9, стр. 41—45.

Вайндрах Г. М. Д. И. Ивановский как микробиолог и вирусолог. (К 30-летию со дня смерти). Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1950, № 11, стр. 72—76.

Васильков Б. П. О «чайном грибе». Природа, 1950, № 7, стр. 59—60.

Гольдин М. И. Жизнь невидимых. М. Госкультпросветиздат. 1950. 168 стр. с илл. и 4 отд. л. илл. Тираж 30 000 экз. Цена 4 р. 50 к.

Горюнова С. В. Химический состав и прижизненные выделения синезеленой водоросли Oscillatoria splendida Grew. М.—Л. Изд. Академии Наук СССР 1950. 160 стр. с черт. Тираж 2500 экз. Цена 8 р. (Институт микробиологии Академии Наук СССР).

Гращенков Н. И. Новое о природе вирусов и микробов (По поводу книги Г. М. Бошьяна «О природе вирусов и микробов»). Известия Академии Наук Белорусс. ССР, 1950, № 4, стр. 45—67.

Диланян А. М. и Тер-Маркосян С. Х. Спектральный анализ различных культур Saccharomyces ellipsoideus. Доклады Академии Наук Армян. ССР, т. XII, 1950, № 2, стр. 57—63.

Дьяченко С. С. Микроорганизмы и их роль в жизни человека. Киев. Госмедиздат УССР, 1950. 52 стр. с илл. Тираж 10 000 экз. на украин. яз. Цена 1 р. 30 к.

Жданов В. М. и Коренблит Р. С. Систематика и номенклатура вирусов. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1950, № 9, стр. 40—44.

Имшенецкий А. А. О скорости размножения складчатой расы Saccharomyces cerevisiae. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXIII, 1950, № 5, стр. 1045—1048.

Исаченко Б. Л. Геологическая деятельность микробов. Природа, 1950, № 8, стр. 34—37.

Карпенко М. К. Дегидрирование некоторых органических соединений факультативным анаэробом Streptococcus lactis. Микробиологич. журнал (Киев), 1950, вып. 2, стр. 59—76 (на украинском языке).

Киченко М. Г. О влиянии питательных сред из картофеля на рост микробов кишечной группы. Гигиена и санитария, 1950, № 9, стр. 45—46.

Красильников Н. А. Актиномицеты — антагонисты и антибиотические вещества. М.—Л. Изд. Академии Наук СССР. 1950. 304 стр. с илл. и 1 л илл. Тираж 5000 экз. Цена в перепл. 15 р.

Крисс А. Е. и Бирюзова В. И. Автолиз и лизис бактериальной клетки. 1. Электронно-микроскопическая картина автолиза бактериальной клетки. Журнал общей биологии, 1950, № 5, стр. 381—390.

Крисс А. Е., Рукина Е. А. и Тихоненко А. С. Биомасса микроорганизмов на дне в сероводородной области Черного моря. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXV, 1950, № 3, стр. 453—456.

Кузнецов С. И. Микробиологическое исследование озер Кокчетавской, Курганской и Тюменской областей. 1. Микробиологическая характеристика процессов минерализации органического вещества в озерах различной степени солености. 2. Микробиологическая характеристика процессов распада органического вещества в иловых отложениях. Труды Лаборатории сапропелевых отложений, 1950, вып. 4, стр. 5—23.

Микрофауна нефтяных месторождений СССР. Сборник 3. Фораминиферы и мшанки каменноугольных и нижнепермских отложений западного склона Урала (Сб. статей под ред. Л. П. Гроздилова). Л.—М. Гостоптехиздат. 1950. 146 стр. с илл. и 22 л. илл. Тираж 1000 экз. Цена в перепл. 9 р.

Михлин Э. и Розенберг И. Влияние специального давления кислорода на окисление сорбита в сорбозу бактериями Acetobacter melanogenum. Биохимия, 1950, вып. 5, стр. 444—447.

Писаржевский О. Н. В невидимом мире (Радиолекция для школьников. М. Изд. Центр. института сан. просвещения. 1950. 7 стр. Тираж 1200 экз. Цена не указ.

Программа по микробиологии. (Для агрономических факультетов с.-х.

вузов). Утвержд. Главн. управл. с.-х. вузов в июне 1950 г. Горки. изд. ВСХА. 1950. 8 стр. Тираж 10 000 экз. Цена не указ.

Программа по микробиологии. Для зоотехнических вузов и факультетов. М. Изд. Министерства сельского хозяйства СССР. 1950. 8 стр. Тираж 2000 экз. Цена не указ.

Рыжков В. Л. Некоторые закономерности действия подавителей вирусов и фага. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXIII, 1950, № 5, стр. 1049—1052.

Сосов Р. Ф. О новых открытиях в биологии (По поводу работы Г. М. Бошьяна «О природе вирусов и микробов»). Ветеринария, 1950, № 9, стр. 15—19.

Стрешинский М. О. Об условиях возникновения антагонистических свойств микроорганизмов. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXV, 1950, № 2, стр. 295—298.

Стрешинский М. О. Роль антибиотических веществ в антагонистических взаимоотношениях между Penicillium notatum и Bacillus subtilis. Труды Института генетики Академии Наук СССР, 1950, № 17, стр. 96—128.

Сухов К. С. О новых открытиях в биологии. По поводу книги Г. М. Бошьяна «О природе вирусов и микробов». Вопросы философии, 1950, № 2, стр. 73—82.

Уткин Л. М. Гомогентизиновая кислота в обмене плесневых грибов. Биохимия, 1950, вып. 4, стр. 330—333.

Халабуда Т. В. К вопросу об изучении фитопатогенности грибов из рода Penicillium Link. Микробиологич. журнал (Киев), 1950, вып. 2, стр. 16—33 (на украинском языке).

II. Сельскохозяйственная микробиология

Абдуллаев С. Г. Пероноспора лука в Азербайджане и меры борьбы с ним. Сад и огород, 1950, № 9, стр. 53—54.

Алимбекова М. Г. Болезни кок-сагыза в Горьковской области. Труды Горьковского с.-х. института, том VI, 1950, вып. 2, стр. 130—133.

Афанасьева А. А. Микробиологические процессы в почве под многолетними травами. Агробиология, 1950, № 5, стр. 60—72.

Ахвледиани Н. Хлороз виноградной лозы в Грузинской ССР и мероприятия по борьбе с ним. Труды Института виноградарства и виноделия Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1950, стр. 1—30.

Бабаян А. А. Мучнистая роса персика в Армении. Известия Академии Наук Армян.ССР, Биологич. и с.-х. науки, 1950, № 8, стр. 711—726.

Бактериальные болезни, поражающие зернобобовые культуры в условиях УССР. Сообщение 3. К. И. Бельтюкова. Бактериоз гороха. Микробиологич. журнал (Киев), 1950, вып. 2, стр. 47—59 (на украинском языке).

Безденко Т. Т. Вредители и болезни плодовых и ягодных насаждений в БССР и меры борьбы с ними. Минск. Гос. изд-во БССР. 1950. 196 стр. с илл. Тираж 10 000 экз. на белорусс. яз. Цена в перепл. 4 р. 60 к.

Березова Е. Ф. Взаимоотношения растений с микрофлорой почвы. Агробиология, 1950, № 5, стр. 73—79.

Березова Е. Ф. Роль микроорганизмов в питании растений в свете передовой агробиологической науки. Советская агрономия, 1950, № 11, стр. 27—34.

Блинков Г. Н. Азотобактер как источник азотного питания для высших растений. Ученые записки Томского гос. педагогического института, т. VI, 1950, стр. 39—42.

Богданова Н. Л. Вредители и болезни цитрусовых культур и меры борьбы с ними. Краснодар. Краевое книгоиздательство. 1950. 23 стр. Тираж 600 экз. Цена не указ.

Боговик И. В. Бактериоз овса в окрестностях г. Львова. Ученые записки Львовского гос. университета, т. XVI, серия биологич., 1949, вып. 5, стр. 77—79.

Брежнев И. Е. Грибные болезни полезащитных лесных насаждений. Под ред. Н. А. Наумова. Л. Изд. Ленинградского гос. университета. 1950. 128 стр. с илл. Тираж 5000 экз. Цена 5 р.

Брундза К. Болезни культурных растений. Вильнюс. Гос. изд-во политич. и науч. литературы. 1950. 572 стр. с илл. Тираж 3000 экз. на литов. языке. Цена 13 р. 80 к.

Брянцев Б. А. и Доброзракова Т. Л. Защита растений от вредителей и болезней. 3-е изд. М.— Л. Сельхозгиз. 1950. 640 стр. с илл. Тираж 25 000 экз. Цена в перепл. 11 р. 60 к. (Учебники и учебные пособия для с.-х. техникумов).

Велиев И. М. Методика селекции средневолокнистого хлопчатника на вилтоустойчивость. Труды Азербайджанского научно-исследовательского института земледелия. Баку, 1950, стр. 9—20.

Владимирская Н. Н. и Сологубов Л. М. Предупреждайте появление рака картофеля. М.— Л. Сельхозгиз. 1950. 52 стр. с илл. Тираж 25 000 экз. Цена 85 к.

Волков А. Н. Защита семян древесно-кустарниковых пород от вредителей и болезней. Советская агрономия, 1950, № 10, стр. 83—88.

Гамбарян Г. С. Обзор болезней виноградной лозы в юго-восточных и северо-восточных районах Армянской ССР. Известия Академии Наук Арм.ССР, Биологич. и с.-х. науки, 1950, № 10, стр. 927—933.

Геллер И. А. и Харитон Е. Г. О причинах различного действия азотобактера на разные сорта сахарной свеклы. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXV, 1950, № 1, стр. 127—130.

Гиргидов Д. Я. О заболевании культур дугласовой пихты. Лесное хозяйство, 1950, № 9, стр. 86.

Дараселия Н. А. К вопросу о биологическом методе борьбы с болезнями чая и цитрусовых. Бюллетень Всесоюзного научно-исслед. института чая и субтропических культур, 1949, № 3, стр. 88—94.

Джаши В. С. и Сихарулидзе А. М. К изучению вредной фауны субтропической хурмы. Бюллетень Всесоюз. научно-исслед. института чая и субтропических культур, 1950, № 1, стр. 76—86.

Инструкция по борьбе с вредителями и болезнями защитных лесонасаждений на землях гослесфонда, колхозов и совхозов в степных и лесостепных районах Европейской части СССР и указания по проведению уходов за полезащитными лесонасаждениями. М. Изд. Министерства сельского хозяйства СССР. 1950. 48 стр. Тираж 5000 экз. Цена не указ.

Инструкция по обследованию на зараженность вредителями и болезнями с.-х. культур и угодий. Сталинград. Изд. Обл. управления сельского хозяйства. 1950. 34 и 10 ненумер. стр. Тираж 500 экз. Цена не указ.

Ионесова А. С. Исследование проницаемости микросклероциев Verticillium dahliae Kleb. возбудителя вилта сортов хлопчатника Gossipium hirsutum. Труды Института ботаники и зоологии Академии Наук Узбек.ССР, 1950, вып. 3, стр. 119—125.

Кечек Н. А. и Степанян Т. Г. Бурая пятнистость семенной люцерны и разработка мер борьбы с ней. Известия Академии Наук Арм.ССР. Биологич. и с.-х. науки, 1950, № 10, стр. 873—885.

Коберидзе А. В. Применение биологически связанного азота в сельском хозяйстве (Азотобактерин и нитрагин). Тбилиси. Госиздат. Груз.ССР, 1950, 131 стр. с илл. Тираж 2000 экз. на грузин. языке. Цена 5 р.

Ковальский М. В. и Орешкин П. Н. Борьба с вредителями и болезнями хлопчатника. Грозный. Обл. книгоиздательство. 1950. 40 стр. Тираж 1000 экз. Цена 75 к.

Куклина-Хрущева Е. П. Микориза льна. Труды Горьковского сельскохоз. института, том VI, 1950, вып. 2, стр. 101—111.

Купорицкая К. И. Некроз древесины виноградных саженцев. Виноделие и виноградарство Молдавии, 1950, № 4, стр. 43—45.

Лагазидзе Г. И. К экологии гоммоза хлопчатника (Bact. malvacearum Sm.) в Азербайджане. Труды Азербайджанского научно-исслед. института земледелия. Баку, 1950, стр. 27—34.

Лазарев С. Ф. Влияние азотобактерина на развитие хлопчатника в условиях орошаемого земледелия. Известия Академии Наук Узбек.ССР, 1950, № 2, стр. 13—25.

Мазанашвили Г. Материалы к установлению хлорозоустойчивости подвойных сортов винограда. Труды Института виноградарства и виноделия Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1950, стр. 173—194.

Манько Н. Ф. Чемерица в борьбе с вредителями сада и огорода. Сб. «Плодоводство и овощеводство». Вып. 2. Минск, 1950, стр. 273—282.

Мейер А. А. Болезни и хранение картофеля в Башкирской АССР, 3-е переработ. и дополн. изд. под ред. Г. З. Хамидуллина. Уфа. Башгосиздат. 1950. 56 стр. с илл. Тираж 4000 экз. Цена 1 р.

Мирпулатов К. И. Система мероприятий по борьбе с вредителями и болезнями хлопчатника и трав. Ташкент. Госиздат Узбек.ССР. 1950. 72 стр. Тираж 10 000 экз. на узбек. языке. Цена 2 р. 60 к.

Московец С. Н. и Сафаров Ш. А. Роль люцерны в оздоровлении почвы от инфекции увядания (вилта) хлопчатника. Труды Азербайджанского научно-исследов. института земледелия. Баку, 1950, стр. 21—26.

Нацарашвили А. Материалы по изучению загнивания винограда, вызванного грибком Aspergillus sp. Труды Института виноградарства и виноделия Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1950, стр. 213—217.

Новогрудский Д. М. К вопросу о внутривидовых и межвидовых взаимоотношениях почвенных микроорганизмов. Агробиология, 1950, № 5, стр. 48—59.

Образцова А. А., Таланова А. Л. и Иванова Л. Е. Почвенный азотобактерин (азотоген) и его эффективность. Труды Горьковского с.-х. института, том VI, 1950, вып. 2, стр. 53—66.

Озол Э., Расинь А. и Смарод Ю. Борьба с вредителями, болезнями и сорняками сельскохозяйственных растений. Рига. Латгосиздат. 1950. 141 стр. с илл. Тираж 5000 экз. на латышском яз. Цена 3 р. 70 к.

Панфилова Т. С. Главнейшие болезни сада и борьба с ними. Ташкент. Изд. Академии Наук Узбек.ССР. 1950. 12 стр. Тираж 2000 экз. Цена 1 р.

Паншин И. А. и Шевченко И. С. Главнейшие вредители и болезни полезащитных лесонасаждений и борьба с ними. Сталинград. Обл. книгоиздательство. 1950. 68 стр. Тираж 6000 экз. Цена 1 р. 90 к.

Пидопличка Н. М. Новые виды грибов на грубых кормах. Микробиологич. журнал (Киев), 1950, вып. 2, стр. 34—41 (на украинском языке).

Присяжнюк А. А. Вредители и болезни гнездовых посевов дуба и меры борьбы с ними. Советская агрономия, 1950, № 10, стр. 88—91.

Программа курса «Защита леса от болезней и вредителей». Для одногодичных с.-х. школ агролесомелиораторов. Утвержд. 8/II — 1950 г. М. Изд. Мин-ва сельского хозяйства СССР. 1950. 8 стр. Тираж 800 экз. Цена не указ.

Рахно П. Микробы в почве и сознательное направление их деятельности. Таллин. Эстонское гос. изд-во. 1950. 37 стр. Тираж 3000 экз. на эстон. языке. Цена 1 р.

Романевич Б. В. Опыты по борьбе со свекловичным долгоносиком и озимовой совкой при помощи микробиологического метода. Научные труды Института энтомологии и фитопатологии Академии Наук Укр.ССР, т. 2, 1950, стр. 328—337.

Рудаков К. И., Старыгина А. П. и Шишелова Н. А. Мягкая гниль овощных. Доклады Всесоюзной Академии с.-х. наук им. Ленина, 1950, вып. 10, стр. 25—28.

Рузинов П. Г. и Охова Е. П. Вредители и болезни овощных культур в Молдавии и борьба с ними. Кишинев. Гос. изд-во Молдавии. 1950. 56 стр. с илл. Тираж 5000 экз. Цена 1 р. 50 к. То же на молдавском языке. Тираж 5000 экз.

Румянцев В. М. Влияние азотогена на урожай технического картофеля. Труды Всесоюзного научно-исследов. института спиртовой промышленности, 1950, вып. 1, стр. 53—63.

Рыжков В. Л., Тарасевич Л. М. и Лойдина Г. И. О действии крепких растворов нуклеината натрия на вирус мозаичной болезни табака (ВТМ) и альбумин. Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXIV, 1950, № 5, стр. 1023—1024.

Салунская Н. И. Moniliopsis Aderholdii Ruhl — возбудитель бурой гнили корней сахарной свеклы. Микробиологич. журнал (Киев). 1950, вып. 2, стр. 42—46 (на украинском языке).

Свидерский Л. П. Влияние продуктов жизнедеятельности грибка Streptomyces griseus на рост азотобактера. Труды Одесского гос. университета, т. III, вып. 3, 1950, стр. 67—72.

Сербинов П. П. О борьбе с мильдью в Молдавии. Виноградарство и виноделие СССР, 1950, № 11, стр. 54.

Солодовник М. Г. Навозная жижа и аммиачная селитра как средство борьбы с американской мучнистой росой крыжовника (Sphaerotheca mors Uvae). Сб. «Плодоводство и овощеводство». Вып. 2, Минск. 1950, стр. 264—267.

Степанов К. М. Об источниках заразного начала инфекционного усыхания лимонов («Мальсекко»). Доклады Всесоюзной Академии с.-х. наук им. Ленина, 1950, вып. 8, стр. 39—44.

Сухов К. С. и Вовк А. М. Дифференциальные различия между северным и южным столбуром картофеля. Труды Института генетики Академии Наук СССР, 1950, № 17, стр. 236—238.

Сухов К. С. и Вовк А. М. Зависимость наследственной реакции видов Nicotiana на вирус табачной мозаики от температуры. Труды Института генетики Академии Наук СССР, 1950, № 17, стр. 232—235.

Сухов К. С. и Никифорова Г. С. Репродукция вируса табачной мозаики и синтетическая активность протеаз в листьях гибридного табака. Труды Института генетики Академии Наук СССР, 1950, № 17, стр. 239—242.

Танатин Б. Я. О наличии азотобактера под пшеницей в почвах Северного Таджикистана. Сообщения Таджикского филиала Академии Наук СССР, 1950, вып. 23, стр. 7—10.

Тетеревникова-Бабаян Д. Н. Болезни клевера в Армянской ССР. Сб. научных трудов Армянского с.-х. института, 1950, № 6, стр. 119—128.

Тетеревникова-Бабаян Д. Н. Очерк вирусных болезней растений в Армянской ССР. Сб. научных трудов Армянского с.-х. института, 1948, № 5 (вышел в свет в 1950 г.), стр. 137—150.

Федоров М. В. Современные представления о физиологическом ходе процесса фиксации азота атмосферы бактериями. Доклады Московской сельскохозяйствен. Академии им. Тимирязева, 1950, вып. 12, стр. 134—149.

Худов В. Г. НИУИФ-2 (гранозан) и фузариозные заболевания (зерновых культур). Селекция и семеноводство, 1950, № 8, стр. 72.

Черемисинов Н. А. Болезни семян кок-сагыза и меры борьбы с ними. М. Изд. Министерства сельского хозяйства СССР. 1950. 16 стр. с илл. Тираж — 5000 экз. Цена не указ.

Чугунин Я. В. и Юганова О. Н. Фенологический календарь по защите плодового сада от вредителей и болезней. Изд. 3-е исправл. и дополн. Симферополь. Крымиздат, 1950. 275 стр. с илл. Тираж 5000 экз. Цена в перепл. 9 р.

Шафранская В. Н. Новые болезни желудей и меры борьбы с ними. Лес и степь, 1950, № 10, стр. 52—56.

Шварцман С. Р. Грибы — разрушители древесины и меры борьбы с ними. Алма-Ата. Изд. Академии Наук Казах.ССР. 1950, 43 стр. с илл. Тираж 1000 экз. Цена 2 р. 30 к.

Шулындин А. Ф. О поражении фузариозом различных видов и сортов однолетних вик. Труды Ставропольского с.-х. института, 1950, вып. 4, стр. 55—67.
Шулындин А. Ф. Поражаемость фузариозом сортов чечевицы при весеннем и летнем посеве. Труды Ставропольского с.-х. института, 1950, вып. 4, стр. 69—75.
Юганова О. Н. Мероприятия по борьбе с черным раком яблони. Сад и огород, 1950. № 9, стр. 76.

III. Техническая и пищевая микробиология

Абрамов М. Д. Белковые сухие дрожжи — новый корм для лисиц. Каракулеводство и звероводство, 1950, № 4, стр. 47—51.
Вечер А. С. Экспрессный метод контроля брожения в виноделии. Виноделие и виноградарство СССР, 1950, № 8, стр. 27—28.
Кивенко С. и Романович Т. Дрожжевая инфекция в производстве сгущенного молока с сахаром. Молочная промышленность, 1950, № 9, стр. 18—19.
Кобахидзе М. Г. Генезис метилацетилкарбинола при уксуснокислом брожении. Биохимия виноделия, сб. 3, 1950, стр. 138—146.
Комарова Л. И. Влияние количества дрожжей на сбраживание сусла. Агробиология, 1950, № 5, стр. 138—140.
Комарова Л. И. Приспособление дрожжей к высоким концентрациям сахара. Природа, 1950, № 7, стр. 60—63.
Косиков К. В. О наследовании ферментативных свойств у дрожжей. Труды Института генетики. Академии Наук СССР, 1950, № 17, стр. 157—168.
Ленчевский О. М. и Архангельская З. В. Предотвращение биологических обрастаний в теплообменной аппаратуре. Химическая промышленность, 1950, № 8, стр. 7—8.
Лоза В. М. и Саутин В. М. О времени снятия вина с дрожжей. Виноделие и виноградарство СССР, 1950, № 9, стр. 14—16.
Михайлов Н. М., Мельцер И. А. и Покровский В. К. Исследование процесса сушки пекарских дрожжей и разработка нового типа сушилки. Труды Всесоюз. научно-исследов. института пивоваренной промышленности. М. 1950, стр. 112—20.
Могилянский Н. К. Особенности заболевания вин Таджикистана. Виноделие и виноградарство СССР, 1950, № 9, стр. 33—34.
Мосиашвили Г. И. Значение R и S форм дрожжей в виноделии. Виноделие и виноградарство СССР, 1950, № 9, стр. 30—31.
Мосиашвили Г. Чистые культуры дрожжей для сбраживания высококачественных сусел. Труды Института виноградарства и виноделия. Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1950, стр. 141—149.
Непомнящая М. Л., Медвинская Л. Ю. и Новикова С. И. Накопление бактериофага молочнокислых стрептококков на сыр-масло-заводах. Микробиологический журнал (Киев), 1950, вып. 2, стр. 77—83 (на украин. яз.).
Платковская В. М. и Скобелева Н. И. Повышение сбраживаемости кваснего сусла. Труды Всесоюз. научно-исследов. института пивоваренной промышленности. М. 1950, стр. 77—87.
Плевако Е. А. и Николаев Р. П. Зачение влажностн сушеных пекарских дрожжей в процессе хранения. Труды Всесоюз. научно-исследов. института пивоваренной промышленности. М. 1950, стр. 102—110.
Преображенский А. А. Метод хранения и рассылки чистых культур уксуснокислых бактерий. Труды Всесоюз. научно-исследов. института пивоваренной промышленности. М. 1950, стр. 133—134.
Преображенский А. А. Получение посевного материала плесневых грибов. Труды Всесоюз. научно-исследов. института пивоваренной промышленности. М. 1950, стр. 127—132.
Применение дрожжей чистой культуры в виноделии. Одесса. Изд. Украинского научно-исслед. института виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова. 1950. 10 стр. Тираж 2000 экз. Цена не указ.
Программа курса «Химия и микробиология питьевых и сточных вод». (Для специальности «Водоснабжение и канализация» инженерно-строительных вузов и факультетов). (Утвержд. 15/V 1950 г.). М. Изд. Московского инженерно-строительного ин-та им. В. В. Куйбышева. 1950. 8 стр. Тираж 4000 экз. Цена 40 к.
Программа по курсу микробиологии и биохимии брожения (Для химико-технологических факультетов лесотехнических высших учебных заведений). Утвержд. Глав. управл. лесотехнич. и лесохозяйств. вузов 18/VI — 1950 г. Л. Изд. Лесотехнич. академии им. С. М. Кирова. 1950. 6 стр. Тираж 500 экз. Цена не указ.
Рубенчик Л. И. Микроорганизмы как фактор коррозии бетонов и металлов. Киев. Изд. Академии Наук Укр.ССР 1950. 65 стр. Тираж 3000 экз. Цена 4 р.
Семихатова Н. М. Засевные дрожжи, как один из источников инфицирования пекарских дрожжей посторонними дрожжевыми грибками. Труды Всесоюз. научно-исследов. института пивоваренной промышленности. М. 1950, стр. 121—126.
Хохлов К. А. О борьбе с молочнокислым брожением. Виноделие и виноградарство СССР. 1950. № 9, стр. 35.

ХРОНИКА

ПРИСУЖДЕНИЕ СТАЛИНСКИХ ПРЕМИЙ ЗА ВЫДАЮЩИЕСЯ РАБОТЫ В ОБЛАСТИ МИКРОБИОЛОГИИ ЗА 1950 год

В марте текущего года опубликовано постановление Совета Министров СССР о присуждении Сталинских премий за выдающиеся работы 1950 г. в области науки, изобретательства, литературы и искусства.

Присуждение Сталинских премий является ярким и убедительным свидетельством бурного расцвета науки и искусства в нашей стране и с особой демонстративностью показывает, каких замечательных успехов добился наш народ в деле развития советской культуры.

Большевистская партия, Советское правительство и наш великий вождь и учитель товарищ Сталин проявляют исключительную заботу о постоянном росте и развитии нашей науки, заботу об ученых и новаторах. В ответ на эту заботу советские ученые, передовые люди нашей промышленности и сельского хозяйства прилагают все свои усилия к тому, чтобы своими исследованиями, изобретениями всемерно помочь быстрому и успешному выполнению грандиозных планов развития народного хозяйства нашей страны.

Поэтому вполне закономерно то явление, что среди лауреатов Сталинских премий мы, наряду с деятелями науки и искусства, видим также передовиков и новаторов промышленности и сельского хозяйства.

Среди лауреатов Сталинских премий мы встречаем также имена наших советских микробиологов. С особой радостью и гордостью мы отмечаем то весьма отрадное явление, что из года в год увеличивается число научных работников, удостоенных Сталинских премий за свои труды в области общей, технической и сельскохозяйственной микробиологии.

Среди лауреатов, получивших Сталинскую премию в 1949 г., был известный советский микробиолог профессор Михаил Васильевич Федоров, удостоенный этой высокой награды за свои многолетние оригинальные исследования в области фиксации азота микроорганизмами, изложенные в капитальном труде «Биологическая фиксация азота атмосферы».

В прошлом году Сталинская премия была присуждена крупному советскому микробиологу профессору Владимиру Николаевичу Шапошникову за его фундаментальный труд «Техническая микробиология», в котором обобщены многолетние исследования автора и его учеников в этой области микробиологии.

В 1951 г. Сталинских премий удостоены работы двух известных советских микробиологов: члена-корр. Академии Наук СССР Николая Александровича Красильникова «Определитель бактерий и актиномицетов» и профессора Евгения Николаевича Мишустина «Термофильные микроорганизмы в природе и практике».

Появление капитального труда Н. А. Красильникова «Определитель бактерий и актиномицетов» явилось важным событием в микробиологической науке нашей страны.

Известно, что имевшиеся до выхода труда Красильникова отечественные определители микроорганизмов (Горовиц-Власовой, Штибеня и др.) устарели. Советские микробиологи вынуждены были пользоваться переведенным на русский язык определителем микробов, составленным Комитетом американских микробиологов под общей редакцией Берджe. Указанный определитель страдает многими весьма существенными недостатками, вскрытыми в работах ряда советских ученых (Н. А. Красильников, В. И. Шапошников, В. И. Кудрявцев). Недочеты методологического характера, а также неправильности в распределении материала крайне затрудняли пользование определителем Берджe.

В определителе Н. А. Красильникова, построенном автором на филогенетических принципах классификации микробов и в значительной части на материале, основанном на собственных наблюдениях, советские микробиологи нашли весьма ценное пособие, которое безусловно окажет существенную помощь в их повседневной научной и практической работе.

Работа Евгения Николаевича Мишустина «Термофильные микроорганизмы в природе и практике» посвящена детальному разбору биологичекских особенностей и практического значения весьма обширной группы теплолюбивых микроорганизмов, отличающихся своей значительной биохимической активностью. В этой работе обобщены многолетние исследования и большой практический опыт самого автора по проблеме термофилии микроорганизмов и ее практическому значению, а также весь мировой опыт.

По широте и глубине изложения материала работа Е. Н. Мишустина является уникальной в отечественной литературе, посвященной термофильным микроорганизмам.

Редакция журнала «Микробиология» выражает свою глубокую уверенность в том, что советские микробиологи, воодушевленные неустанной заботой партии и правительства о развитии нашей науки, приложат все свои усилия и знания к еще более тесному сближению науки с практикой строительства коммунизма, к еще более быстрому продвижению нашей науки вперед.

50-ЛЕТИЕ СО ДНЯ ПРОЧТЕНИЯ ПЕРВОЙ ЛЕКЦИИ ПО МИКРОБИОЛОГИИ В ЛЕНИНГРАДСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

16 октября 1950 г. состоялось заседание кафедры микробиологии Ленинградского государственного университета им. А. А. Жданова, посвященное 50-летию со дня прочтения первой лекции по микробиологии в Петербургском университете.

Заседание происходило в той же большой ботанической аудитории, где 16 (3) октября 1900 г. Б. Л. Исаченко прочел вступительную лекцию впервые им осуществленного курса микробиологии, называвшегося тогда «сельскохозяйственная бактериология».

С докладом о юбилейной дате выступила проф. З. Г. Разумовская, которая осветила историю создания курса и заслуги Б. Л. Исаченко в подготовке кадров советских микробиологов. В докладе был указан общий характер курса и приведены материалы первой лекции Б. Л. Исаченко, рукопись которой была любезно предоставлена докладчику Н. Б. Заварзиной.

В своей вступительной лекции Б. Л. Исаченко говорил об успехах микробиологии к началу XX в. и указывал перспективы будущих исследований. В лекции была отражена мысль о том, что применение научных достижений в практике является доказательством успехов науки.

Лекция начиналась словами:

«Мне нечего говорить, как огромно то значение, которое приобрела бактериология как среди других наук, так и в повседневной жизни». И далее, говоря о развитии микробиологии, Б. Л. Исаченко указывает:

«Разрастание бактериологии не могло итти вполне равномерно во всех направлениях, вопросы, близко касающиеся человека, имеющие практическое значение, привлекали к себе большое число работников, и накопление фактов шло в такой области сильнее, чем в других. Методы исследования, как и объекты исследования, менялись, и нет ничего удивительного, что отдельные вопросы, разрабатываемые бактериологией, не замедлили обратиться в самостоятельные дисциплины».

Касаясь методов бактериологии, Б. Л. Исаченко говорил: «Вообще надо сказать, что краеугольный камень бактериологии — метод чистых культур,— если он и отличается некоторой односторонностью и не всегда может привести к решению многих вопросов, но зато, с другой стороны, он внес в бактериологию большую точность, и этому методу бактериология обязана своими успехами». Касаясь значения бактериологии в области прикладного знания, Б. Л. Исаченко указывает успехи в пивоварении, виноделии, молочном деле, мочке прядильных растений. «Исследования Фрибеса указали, какую громадную роль играют микроорганизмы в процессе мочки льна... Это показало, что и в этой отрасли промышленности деятельностью микроорганизмов можно воспользоваться на пользу человека».

Переходя к микроорганизмам почвы, Б. Л. Исаченко говорит об исследованиях Виноградского и Омелянского, подчеркивает значение микроорганизмов в круговороте веществ и снова указывает: «нет ничего удивительного, что, когда роль этих существ выяснилась, то явилось желание направить их деятельность по своему желанию», и тут же с сожалением отмечает недобросовестное отношение предпринимателей, для которых бактериальное удобрение явилось средством наживы. Штрих, который характеризует особенности капиталистического хозяйства.

После Великой Октябрьской социалистической революции курсу микробиологии стали уделять должное внимание. В 1918 г. была утверждена кафедра микробиологии. Б. Л. Исаченко ее возглавил и явился воспитателем многих советских микробиологов.

Проф. Г. Л. Селибер в своем выступлении отметил особую заслугу Б. Л. Исаченко как пионера в деле внедрения курса микробиологии в высшую школу и указал, что он еще в 1898 г. проводил курс микробиологии на Курсах П. Ф. Лесгафта.

Выступление проф. Ф. В. Хетагуровой было посвящено педагогической деятельности Б. Л. Исаченко в сельскохозяйственном институте.

Доктор биологических наук Л. Г. Родина осветила деятельность Б. Л. Исаченко как научного руководителя. С воспоминаниями о Б. Л. Исаченко как учителе и научном руководителе выступили Ю. А. Равич-Щербо, М. М. Макарова, Р. А. Менкина, Л. И. Крутикова и др. Все они особенно подчеркивали значение деятельности Б. Л. Исаченко как педагога и крупного ученого, воодушевлявшего всех своим примером беззаветной любви к науке и Родине.

З. Разумовская

ПАМЯТИ ПРОФЕССОРА Н. Н. ИВАНОВА

9 декабря 1950 г. состоялось заседание кафедры микробиологии Ленинградского государственного ордена Ленина университета им. А. А. Жданова, посвященное памяти проф. Николая Николаевича Иванова в связи с 10-й годовщиной со дня его смерти.

11 лет проф. Н. Н. Иванов заведывал кафедрой микробиологии в Ленинградском университете, развивая биохимическое направление в науке о микроорганизмах.

Почтить память друга и учителя собрались многие сотрудники и ученики Н. Н. Иванова, работающие в различных научно-исследовательских и производственных учреждениях Ленинграда.

В докладе проф. З. Г. Разумовской и в выступлениях ряда товарищей (Кардо-Сысоева, Трайнина, Ермаков, Сапожников, Хейфец, Лойцянская и др.) отмечались большие заслуги проф. Н. Н. Иванова в развитии советской биохимии растений и витаминологии, в создании отечественного витаминного производства и в деле подготовки высококвалифицированных специалистов — биохимиков и микробиологов.

М. Лойцянская

БОРИС СЕРГЕЕВИЧ АЛЕЕВ

31 августа 1950 г. безвременно скончался доктор биологических наук профессор Б. С. Алеев.

Борис Сергеевич Алеев родился в Москве 14 мая 1904 г.

В 1921 г. он поступил на промышленно-технический факультет Института народного хозяйства им. Плеханова, который окончил в 1929 г. Еще будучи студентом первого курса, он начал научную работу в микробиологической лаборатории этого института под руководством проф. Я. Я. Никитинского, продолжателем дела которого он оставался до последних дней своей жизни

До окончания Института в 1923 г., по предложению проф. Никитинского, Борис Сергеевич начал работать в биолого-бактериологической лаборатории Центрального комитета водохранения (ныне Всесозный н.-и. ин-т «ВОДГЕО»). В этой лаборатории он работал до 1937 г., занимаясь изучением физиологии микроорганизмов питьевых и сточных вод.

В 1935 г. Борис Сергеевич был утвержден в ученом звании старшего научного сотрудника, и в том же году Президиумом Академии Наук СССР ему была присуждена ученая степень кандидата биологических наук.

В период с 1935 по 1937 г. Борис Сергеевич работал в лаборатории акад. Баха в Институте биохимии Академии Наук СССР во вопросам физиологии азотфиксирующих бактерий.

В 1940 г. он защитил докторскую диссертацию на тему: «Цветение источников водоснабжения и его влияние на качество воды», в которой, в частности, приведены итоги собственных исследований в области физиологии и экологии сапробных водорослей, оценки биологической продуктивности водоемов, механизма выделения водорослями органических веществ в окружающую среду, прогнозирования цветения воды в водоемах и др.

Вторым направлением в научной деятельности Бориса Сергеевича надо считать многочисленные исследования в области пищевой и промышленной микробиологии, начатые в 1930 г. и широко развернувшиеся с 1937 г. в связи с его переходом в микробиологическую лабораторию Института народного хозяйства им. Плеханова. Здесь им и его учениками были проведены разнообразные исследования по различным вопросам переработки, консервирования и хранения пищевых продуктов, в частности существенные работы по выяснению действия углекислого газа на микроорга-

низмы в связи с его практическим использованием для хранения пищевых продуктов.

Борис Сергеевич вел большую педагогическую работу. В период с 1930 по 1937 г. он читал курс микробиологии пищевых средств в Торгово-товароведном институте Центросоюза, в Институте инженеров общественного питания, Промышленной академии имени Сталина, а с 1937 г. до последних дней своей жизни читал курс технической микробиологии в Институте народного хозяйства им. Плеханова.

Борис Сергеевич был превосходным лектором, внимательным и чутким педагогом, его лекции отличались глубиной содержания и новизной материала. Многочисленные его ученики работают в различных отраслях народного хозяйства.

Последние годы Борис Сергеевич работал во Всесоюзном научно-исследовательском институте пенициллина и других антибиотиков в области микробиологии, биохимии и технологии производства антибиотиков.

Перу Б. С. Алеева принадлежит около 50 опубликованных научных работ и в их числе несколько руководств и учебников по технической микробиологии («Введение в техническую микробиологию», Пищепромиздат, 1944; «Микробиология консервирования», 1945, совместно с Ф. М. Чистяковым; «Практические занятия по микробиологии», 1943, совместно с Я. Я. Никитинским, и др.).

Эти руководства выгодно отличаются новизной приводимого в них материала, оригинальностью построения и изложения.

Проф. Алеев состоял действительным членом Московского об-ва испытателей природы и Всесоюзного об-ва по распространению научных и политических знаний; он принимал участие в работах ученых советов ряда высших учебных заведений и научно-исследовательских учреждений.

Вся деятельность Бориса Сергеевича была посвящена служению советской науке. Он являлся примером ученого, сочетавшего изучение глубоких теоретических вопросов с разрешением разнообразных актуальных запросов отечественной промышленности. За заслуги в этой области Борис Сергеевич был награжден орденом «Знак Почета».

Основными чертами Бориса Сергеевича как ученого были его широкая научная эрудиция и осведомленность в различных областях общей биологии, микробиологии, биохимии и технологических дисциплин.

Борис Сергеевич как человек отличался большой чуткостью, отзывчивостью и личной обаятельностью. Таким он и останется навсегда в памяти его друзей, товарищей и учеников.

ПОПРАВКА

По вине типографии в статье Гольдина и Париевской «Материалы по столбуру томатов в Крыму» (т. XIX № 6 к стр. 528, 1950 г.) вкралась ошибка.

Строки с 1 по 5-ю сверху следует читать:

«веточка здорового томата. Чтобы предотвратить вылет цикадок, отверстия заделывались марлей и ватой.

Опыт от 5.VIII. В этом опыте на 3 куста томатов было подсажено по 20 цикадок гиалестес, которые предварительно кормились на веточке столбурного томата».

СОДЕРЖАНИЕ

М. Р. Гибшман. Изменчивость молочнокислых стрептококков. II. Локонообразные (складчатые) формы Str. lactis и Str. diacetilactis 193
Н. Д. Иерусалимский. Онтогенетическое развитие культуры маслянокислых бактерий 205
Н. А. Красильников и Н. И. Никитина. Влияние продуктов жизнедеятельности бактерий на активность антибиотиков 217
М. В. Федоров. Физиологические особенности первых этапов процесса фиксации молекулярного азота азотобактером 223
К. В. Горбунов. Распространение Azotobacter chroococcum в водоемах и почвах дельты Волги и его значение как фактора продуктивности 231
С. И. Кузнецов. Роль микроорганизмов в образовании сапропелевых отложений 245
А. Е. Крисс, Е. А. Рукина и В. И. Бирюзова. Микрозональность в распределении гетеротрофных микроорганизмов в море 256
Ц. И. Роговская. Влияние тринитротолуола на микроорганизмы и биохимические процессы самоочищения воды 265
Е. Н. Одинцова, М. Н. Мейсель и А. А. Гусева. Применение Endomyces magnusii для количественного определения витамина B_1 путем брожения 273
К. И. Рудаков и М. Р. Биркель. Клубеньковые бактерии и образование прочной структуры почвы 279
А. Г. Конокотина. Основоположник учения о клубеньковых бактериях академик М. С. Воронин 284
Рефераты 287
Критика и библиография 291
Хроника 301

Т03062 Подписано к печати 22/V 1951 г. Печ. л. 9,59+1 вклейка
Уч.-изд. л. 12,1. Формат бум. 70×108 1/16. Бум. л. 3 1/2. Тираж 5200 Заказ 1063

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Статьи, представляемые в редакцию, должны быть тщательно отредактированы в рукописи. Сообщаемые в статье результаты экспериментальных исследований должны быть изложены кратко и ясно, а в конце статьи должны быть выводы. Никакие исправления в корректуре против рукописи не допускаются.

Рукопись, в том числе и литература, должна быть четко переписана на машинке на одной стороне листа писчей бумаги с двумя интервалами. Объем представляемых работ, включая таблицы и литературу, не должен превышать 14—15 страниц, перепечатанных на машинке. С левой стороны листа должны быть оставлены чистые поля (3—4 см). В редакцию посылается первый, перепечатанный на машинке, экземпляр. Страницы рукописи должны быть перенумерованы единой нумерацией, включая основной текст, таблицы, литературу и т. д. Обозначение за одним номером нескольких страниц (например 21а, 21б) не допускается. В конце рукописи обязательно должны быть собственноручная подпись автора, название учреждения, где выполнена работа, и точный его адрес.

Таблицы должны находиться в соответствующих местах рукописи и в тексте на них должны быть ссылки. Подзаголовки таблиц должны быть краткими, но их необходимо писать полностью, без сокращений.

Количество иллюстраций должно быть минимальным, они должны быть совершенно отчетливыми и выполнены тушью на белой бумаге или на кальке. На полях рукописи указывается место рисунка, а в тексте на него дается ссылка. Фотографии печатаются только при абсолютной их необходимости, причем они должны быть контрастными и в черных тонах. На микрофотографиях должно быть указано увеличение, при котором произведен снимок.

На обороте каждого рисунка должны быть написаны простым карандашом: фамилия автора, заглавие статьи, номер рисунка и страница рукописи, к которой он относится. Подписи к иллюстрациям даются на особом листе с указанием номеров рисунков.

Статья должна содержать результаты собственных исследований автора и поэтому в ней разрешается приводить только очень краткие ссылки на литературу.

Приводить названия цитируемых работ в тексте статьи или в сносках нельзя. Вся литература должна быть сведена в особый список, помещаемый в конце статьи. Перечень литературы приводится в алфавитном порядке авторов и нумеруется; для русских и иностранных работ составляются самостоятельные алфавитные списки. Ссылаться на неопубликованные в печати работы и устные сообщения не разрешается.

Отдельные работы одного и того же автора располагаются в хронологической последовательности; в случае наличия у автора нескольких работ, изданных в одном году, они нумеруются строчными буквами алфавита (напр. 1927a; 1927b, 1927c).

В списках литературы должны даваться следующие данные: а) фамилия, б) инициалы, в) название работы, г) сокращенное общепринятое название журнала (для книги — место издания), д) том, страница и год.

Фамилии иностранных авторов при цитировании в статье в первый раз даются как на русском, так и на иностранном языке, а при дальнейших ссылках только на русском языке. Одновременно с фамилией цитируемого автора в скобках указывается его порядковый номер по списку литературы. Помещение в списке литературы всех цитируемых в статье работ — обязательно. Приводить в списке литературы работы, не упоминаемые в тексте, не разрешается.

Сокращение слов, имен, названий, как правило, не допускается. Разрешаются лишь общепринятые сокращения — различных мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все меры должны даваться в метрической системе, а температура по шкале Цельсия.

Рукописи, оформленные без соблюдения настоящей инструкции, будут возвращаться авторам для исправления.

Если автор в связи с вносимыми исправлениями задержит рукопись свыше одного месяца, статья будет считаться в дальнейшем как поступившая вновь.

Редакция